



Universidad
Complutense
Madrid



Universidad
Rey Juan Carlos



POLITÉCNICA

MODELO DE PREDICCIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL DE LAS ESPECIES *Q. ilex*, *Q. pubescens* Y *Q. robur* POR EL MÉTODO DE ESPECTROSCOPÍA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO (NIRS)

Máster Universitario en Restauración de Ecosistemas

Presentado por:

D^a ANDREA MARIETA CHANOVE MANRIQUE

Director:

Dr. JUAN ANTONIO OLIET PALÁ y Dra. PALOMA GARCÍA REBOLLAR

Tutor académico:

Dr. JUAN ANTONIO OLIET PALÁ

En Madrid, a 20 de Septiembre de 2018

“¿En qué momento me convertí en humano?” (O. Chianove 2018)

*A Dios, mi fuerza e inspiración sin fin. Porque a la
cuarta es la vencida, gracias por esta oportunidad
maravillosa de estudio.*

*A mi ángel del cielo, la principal promotora de mi vida y
de mis sueños desde que nací, la Rosa más hermosa.*

*A mis padres, Marieta y Rudy. Gracias mamá por ser mi
impulso a nuevos horizontes, por estar conmigo a
distancia y en persona, por el compromiso profundo, por
la paciencia, el cuidado y la comprensión. Gracias papá
por anhelar siempre lo mejor para mi vida, porque
siempre, aunque lejos y sin ser parte tuya la tecnología,
estabas dándome apoyo y soporte, y sobre todo tu
confianza.*

*A mi compañero de vida. Tu afecto y cariño son
detonantes de mi felicidad y esfuerzo. Gracias por
confiar en mí John.*

*A mi familia y amigos. En especial a los que ni de lejos ni
de cerca, dejan de ser parte de mí.*

Agradecimientos

El desarrollo de un trabajo que recopila todo el esfuerzo del tiempo estudiado, en un país diferente, es un conjunto de encuentros. Quiero agradecer profundamente a los que fueron parte de ello.

A mis directores de TFM. Gracias Juan Oliet, porque me permitiste entrar a un campo que era tan desconocido para mí y el cual ahora me encanta como es el NIRS, por tu valiosa guía, por todas las conversaciones llenas de transmisión de puro conocimiento. Gracias Paloma Rebollar, por tu apoyo y confianza, por absolver cada una de mis dudas, que sin ser pocas, tuvieron siempre una respuesta tan positiva, y por ser como mujer mi inspiración y ejemplo intelectual.

A todos los profesores del máster sin excepción, que fueron la combinación de alta calidad intelectual y a la vez de motivación diaria. Gracias por dejarme presente que sí se puede restaurar un ecosistema.

A mi familia, en especial a mis primos Leslie y Juan, gracias por su apoyo durante mi estancia aquí. A personas que son más que amigas; tengo una hermana escogida, gracias Anja, y un guía que jamás pensé encontrar, gracias Santos. A mis nuevos amigos durante esta larga estancia, a los que si retrocedería el tiempo los volvería a escoger. Cada momento vivido durante este año de estudio fueron únicos.

RESUMEN

La espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) fue utilizada en el siguiente trabajo para predecir el estado nutricional de los elementos minerales N, P, y K, en 324 muestras de tres tipos de tejido vegetal (raíz, tallo y hojas) de las especies *Quercus ilex*, *Q. pubescens* y *Q. robur*, procedentes de ensayos experimentales en vivero donde se aplicaron tres tipos de fertilización y dos combinaciones diferentes de sustrato. Se aplicaron 12 diferentes transformaciones matemáticas para detectar espectros anómalos (distancia de Mahalanobis $H > 3$) descartando 5 muestras de nuestra población inicial, quedando como colectivo de calibración 319 muestras. Se elaboraron 12 ecuaciones de calibración con el método de Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales Modificados y se obtuvo como mejor modelo de predicción el tratamiento matemático combinando la corrección de scatter SNV and Detrend y la 2ª derivada espectral. Este modelo M7 presentó para N, P y K, un R^2_{cv} de 0.987; 0.692 y 0.518, un SECV de 0.470; 0.200 y 1.67 mg/g, y RPD de 8.81, 1.80, y 1.44 respectivamente. Los resultados obtenidos demuestran la excelente capacidad predictiva de la técnica NIRS para N, y la aceptable capacidad para los nutrientes minerales P y K. Se realizó el mismo procedimiento según colectivo de tejido vegetal, y la precisión mejora solamente para P en hojas y K en tallo; y según colectivo por especie de *Quercus* donde mejora la capacidad predictiva para N en las especies *Q. ilex* y *Q. pubescens*, y para P en la especie *Q. robur*. En el resto de los casos se recomienda utilizar el modelo global para la predicción. Los resultados de este trabajo demuestran la capacidad de la tecnología NIRS para conseguir calibraciones satisfactorias que ayuden a optimizar las prácticas de fertilización y la evaluación de la calidad de la planta para futuras revegetaciones.

PALABRAS CLAVE: infrarrojo, calibración, calidad de planta, composición mineral, vivero, fertilización

SUMMARY

Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) was used to predict the nutritional status of the mineral elements N, P, and K, in 324 samples of three types of plant tissue (root, stem and leaves), from the species *Quercus ilex*, *Q. pubescens* and *Q. robur*, from experimental nursery trials where three types of fertilization and two different combinations of substrate were applied. Twelve different mathematical transformations were used to detect anomalous spectrums (Mahalanobis distance $H > 3$), removing 5 samples of the initial population, leaving 319 samples as calibration group. Twelve calibration equations were elaborated with the Modified Partial Least Square Regression method and the best prediction was obtained with the 'SNV and Detrend' scatter correction and the second spectral derivative. This model M7 shows for N, P and K, R^2_{cv} values of 0.987; 0.692 and 0.518, SECV of 0.470; 0.200 and 1.67 mg/g, and RPD of 8.81, 1.80, and 1.44 respectively. These results prove the excellent prediction capability of NIRS technique for N, and the acceptable capability for the mineral nutrients P and K.

Using the same procedure in order to vegetal tissue group, the precision improves only for P in leaves and K in stem; and in order to *Quercus* species group, predictive capacity for N in *Q. ilex* and *Q. pubescens* species are better, and for P in *Q. robur* species. In the rest of cases, it is recommended to use the global model for prediction.

The results of this work show the ability of NIRS technology to achieve succesful calibrations that help to optimize fertilization practices and the quality evaluation of plants to future revegetations.

KEYWORDS: infrared, calibration, plant quality, mineral composition, nursery, fertilization

ÍNDICE

1	CAPÍTULO I: ANTECEDENTES	3
1.1	INTRODUCCIÓN.....	3
1.2	LOS NUTRIENTES MINERALES EN LAS PLANTAS	4
1.3	TÉCNOLOGIA NIRS Y SU APLICACIÓN PARA EVALUAR ESTADO NUTRICIONAL EN PLANTAS	5
1.3.1	Descripción de la técnica NIRS.....	5
1.3.2	Técnica NIRS para evaluar el estado nutricional forestal	7
1.3.3	Etapas del desarrollo de los modelos de calibración NIRS	9
2	CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN	12
3	CAPÍTULO III: OBJETIVOS	13
3.1	OBJETIVO GENERAL	13
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
4	CAPÍTULO IV: ANÁLISIS EXPERIMENTAL.....	14
4.1	UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	14
4.2	MATERIALES Y EQUIPOS.....	14
4.3	METODOLOGÍA.....	15
4.3.1	ORÍGEN DE MUESTRAS	15
4.3.2	PREPARACIÓN DE MUESTRAS	16
4.3.3	TOMA DE ESPECTROS.....	17
4.3.4	CALIBRACIÓN DE RUTINA Y DESARROLLO DE MODELOS DE PREDICCIÓN.....	17
5	CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
5.1	Desarrollo de modelo de predicción según colectivo global	20
5.2	Desarrollo de modelo de predicción según tejidos vegetales	26
5.3	Desarrollo de modelo de predicción según especie de <i>Quercus</i>	29
6	CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	32
7	BIBLIOGRAFÍA.....	33
8	ANEXOS.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción general del éxito de calibración en algunos artículos bibliográficos	7
Tabla 2. Estudios recientes sobre calibración NIRS	8
Tabla 3. Nivel de precisión según valores de R^2_{CV}	11
Tabla 4. Modelos globales de predicción aplicados.....	18
Tabla 5. Valores analíticos de N, P, y K obtenidos por método de referencia	20
Tabla 6. Estadísticos de calibración de los modelos globales generados.....	21
Tabla 7. Estadísticos de calibración según tejidos vegetales	27
Tabla 8. Estadísticos de calibración según especies de <i>Quercus</i>	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Frecuencia y longitud de onda de la espectroscopía NIRS.....	6
Figura 2. Diagrama esquemático de un dispositivo NIRS	6
Figura 3. Muestras de especies <i>Quercus ilex</i> , <i>Quercus pubescens</i> y <i>Quercus robur</i>	15
Figura 4. Distribución bloque experimental de muestras	15
Figura 5. Crisoles con las muestras colocadas en estufa para secado	16
Figura 6. Preparación de muestra y colocado en cápsula rectangular ¼.....	17
Figura 7. Equipo analizador FOSS NIR System 5000, colocado de cápsulas de muestras, y espectro tomado y almacenado con el programa WinISI v.1.5.	17
Figura 8. N° de muestras en función de la concentración de N en el colectivo global (n=319)	22
Figura 9. N° de muestras en función de la concentración de P en el colectivo global (n=319).....	22
Figura 10. N° de muestras en función de la concentración de K en el colectivo global (n=319).....	23
Figura 11. Calibración de rutina para el nitrógeno	24
Figura 12. Calibración de rutina para el fósforo	24
Figura 13. Calibración de rutina para el potasio	25
Figura 14. N° de muestras en función de la concentración de N en el colectivo según tejido vegetal	26
Figura 15. N° de muestras en función de la concentración de P en el colectivo según tejido vegetal.	26
Figura 16. N° de muestras en función de la concentración de K en el colectivo según tejido vegetal.	26
Figura 17. N° de muestras en función de la concentración de N en el colectivo según especie de <i>Quercus</i>	29
Figura 18. N° de muestras en función de la concentración de P en el colectivo según especie de <i>Quercus</i>	29
Figura 19. N° de muestras en función de la concentración de K en el colectivo según especie de <i>Quercus</i>	29

ANEXOS

Anexo 1. Estadísticos de calibración de rutina para cada colectivo de muestras	36
Anexo 2. Descripción de muestras outliers generadas en calibración según colectivo global	38
Anexo 3. Descripción de muestras outliers generadas en calibración según tejido vegetal	39
Anexo 4. Descripción de muestras outliers generadas en calibración según especie de <i>Quercus</i>	40
Anexo 5. Calibración de rutina para N, P y K según tejidos vegetales.....	41
Anexo 6. Calibración de rutina para N, P y K según especie de <i>Quercus</i>	44

1 CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

1.1 INTRODUCCIÓN

A lo largo de los años, los ecosistemas se han visto alterados de forma significativa por las actividades humanas, por lo que se ha visto la necesidad de una intervención activa como la restauración. Una forma de restauración es la revegetación, que busca llevar a un estado próximo al que antes había, a las comunidades vegetales que han sido deterioradas o perdidas por impactos (Bradshaw 1997). Por eso se requiere que dicha revegetación se desarrolle de una manera eficiente y se reduzca la probabilidad de fracaso.

Uno de los aspectos principales a tomar en cuenta es el empleo de plantas de vivero de calidad. Es fundamental el rol del vivero forestal ya que es donde se producen las plantas que se plantarán (Oliet et al. 1997). La calidad de una planta es esencial porque de ella dependerá el éxito de una revegetación, diversos estudios han demostrado que realizando un análisis del estado nutricional de las plantas se obtiene múltiples beneficios para asegurar su exitoso crecimiento y calidad (Villar-Salvador 2003).

Existen distintas formas de conocer el estado nutricional de una planta, siendo la más común el análisis de nutrientes minerales de los tejidos vegetales por vía húmeda realizada en laboratorios, que son considerados los métodos de referencia que existen hasta el momento. Para los viveros, el manejo correcto de la fertilización es el principal responsable del estado nutritivo final de la planta. Se debe conseguir un valor óptimo en la concentración de nutrientes que maximice la calidad de la planta y permita su crecimiento en buenas condiciones de vigor durante su cultivo (Oliet et al. 2006)

Las revegetaciones se realizan con diferentes especies forestales. El género *Quercus* tiene algunas de las especies arbóreas más relevantes en los bosques del hemisferio norte, tanto por su amplia distribución geográfica como por su gran importancia ecológica y económica. Muchas de las especies fueron y son parte de numerosos estudios científicos de carácter ecológico y de gestión de ecosistemas forestales (Marañón et al. 2014), y han sido ampliamente utilizadas para la restauración y revegetación de bosques en ecosistemas mediterráneos como tierras de cultivo abandonadas (Rey Benayas y Camacho-Cruz 2004).

Desde los años setenta la espectroscopia de reflectancia cercana al infrarrojo o NIRS ha estado desarrollándose como técnica alternativa a los métodos químicos tradicionales, generalmente como técnica de análisis de productos agrícolas rápida y de bajo coste. La primera aplicación fue en la determinación de grasa, proteína y humedad en granos de semillas oleaginosas (Ben-Gera y Norris 1968); posteriormente se llevaron a cabo los primeros análisis en forrajes y posteriormente fue utilizado en la evaluación de la concentración de nutrientes, minerales y valor nutritivo de cereales, pastos, entre otros. También son numerosas las investigaciones en el análisis NIRS de los nutrientes del suelo,

que ha demostrado ser un medio rápido y efectivo para predecir las propiedades del suelo en general, y las concentraciones de nitrógeno, fósforo y potasio en particular (Qi et al. 2018). En los últimos años se han realizado algunos trabajos sobre el análisis de nutrientes minerales en tejidos vegetales de especies forestales. Muchas veces los resultados obtenidos en la predicción de estos elementos no fueron tan buenos como para los compuestos orgánicos (ej. almidón, azúcares, componentes fibrosos, etc.), debido a la falta de una relación directa entre el elemento mineral y el espectro (Shenk y Westerhaus 1994). Pero estas investigaciones para la aplicación de la técnica NIRS en relación a la evaluación de constituyentes minerales de plantas de vivero pueden considerarse aún escasas (Botero et al. 2009).

El objetivo del presente trabajo de investigación consistirá en desarrollar modelos de predicción de los componentes nutricionales (N, P y K) de los tejidos vegetales de las especies *Q. ilex*, *Q. pubescens* y *Q. robur* a través de la técnica NIRS que puedan ser de ayuda futura para obtener material forestal de reproducción de buena calidad forestal en el cultivo en viveros de estas especies.

1.2 LOS NUTRIENTES MINERALES EN LAS PLANTAS

Los nutrientes minerales son aquellos elementos químicos esenciales para el correcto crecimiento y desarrollo de la planta (Villar-Salvador 2003) y deben de estar disponibles para los cultivos para cubrir sus necesidades inmediatas y futuras de crecimiento y desarrollo. Existen trece nutrientes minerales esenciales, divididos en macronutrientes o nutrientes primarios y micronutrientes. Dentro de los macronutrientes encontramos el nitrógeno, el fósforo y el potasio, que constituyen más del 75% del contenido de todos los nutrientes minerales de los tejidos vegetales, y son a los que se da mayor importancia en los programas de fertilización en vivero (Landis 1997).

El nitrógeno, el fósforo y el potasio forman parte de los componentes bioquímicos más importantes de la materia orgánica vegetal y la estimación de sus contenidos puede ayudar a controlar los procesos metabólicos y la salud de las plantas (Zhai et al. 2013). Estos nutrientes minerales primarios tienen diferentes funciones en las plantas de vivero. El nitrógeno, es el macroelemento más abundante, influye poderosamente en el crecimiento de las plantas y su concentración está relacionada con las tasas de fotosíntesis de las plantas tras la plantación (Oliet et al. 2013). Las plantas pueden absorber este elemento en forma de nitrato o de amonio. Asimismo el incremento de nitrógeno por encima de ciertos niveles conducen a desequilibrios importantes entre parte aérea y radical de la planta. El fósforo interviene decisivamente con el nitrógeno en el crecimiento y desarrollo de la planta, ya que tiene un papel regulador en la síntesis de almidón y otros carbohidratos, se puede unir con muchos compuestos, realizando síntesis, degradaciones e intercambio de energía, asimismo estimula

el desarrollo de las raíces frente a la parte aérea, contribuyendo a producir en el vivero la planta más equilibrada. Las plantas pueden absorberlo como ion ortofosfato primario o fosfato secundario. El potasio es el elemento esencial requerido en mayores cantidades por la planta, y posee importantes funciones metabólicas como el ajuste osmótico, para mejorar la tolerancia de la planta al estrés hídrico y a las bajas temperaturas.

Cada especie tiene unos requerimientos particulares de nutrientes que le permiten un crecimiento y vigor óptimos. Estos requerimientos no son constantes y cambian según crecen y se desarrollan las plantas (Howeler 1984; Oliet et al. 2006). Su acumulación en los diferentes tejidos vegetales varía, por ejemplo el nitrógeno se acumula más en hojas y el fósforo se acumula principalmente en las regiones meristemáticas de tallos y raíces. Las plantas asimilan nitrógeno y fósforo mediante reacciones bioquímicas de oxidación y reducción para formar enlaces covalentes con el carbono y crear compuestos orgánicos. Sin embargo el potasio no se combina con otros elementos para formar complejos orgánicos sino que suele estar en forma iónica inorgánica (Ciavarella et al. 1998).

1.3 TECNOLOGÍA NIRS Y SU APLICACIÓN PARA EVALUAR ESTADO NUTRICIONAL EN PLANTAS

1.3.1 Descripción de la técnica NIRS

La espectroscopía por reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS por sus siglas en inglés) es una técnica que se basa en cuantificar la energía luminosa absorbida por la vibración de las moléculas de una muestra medida con un espectrofotómetro. La zona NIRS del espectro electromagnético se encuentra comprendida en el rango de longitudes de onda entre los 800 y 2500nm. (ver Figura 1), y las vibraciones moleculares corresponden a enlaces moleculares entre el hidrógeno y el carbono, el nitrógeno o el oxígeno. El análisis NIRS consiste en la emisión de un haz de luz sobre una muestra que, según los tipos de enlaces moleculares que tiene absorberá una determinada cantidad de energía, y esta absorción en el infrarrojo cercano se cuantificará midiendo en diferentes longitudes de onda la energía reflejada, y será expresada como absorbancia ($\log 1/R$ de reflectancia) (Cozzolino 1998).

Los enlaces moleculares presentes en una muestra como C-H, N-H, S-H, C-N, C-C, C=C, C=O y O-H, absorben una cantidad de energía y vibran, aumentando su distancia entre átomos, o se doblan cambiando el ángulo de enlace entre los mismos; y así la cantidad de luz absorbida se estima por diferencia entre la luz incidente y la reflejada (Alomar et al. 2009).

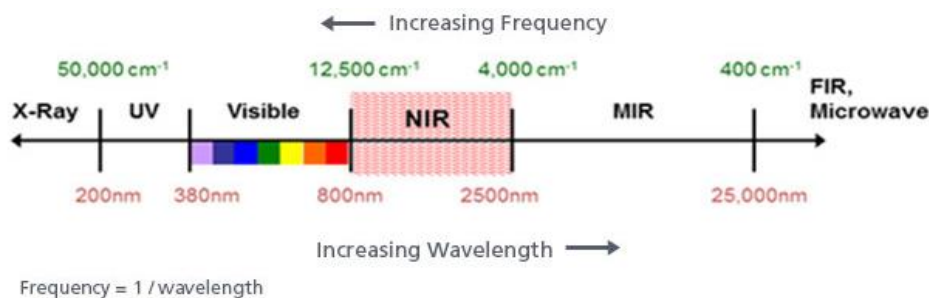


Figura 1. Frecuencia y longitud de onda de la espectroscopía NIRS
Fuente: (Mills 2017)

El instrumento NIRS se compone de una fuente de energía radiante, un dispositivo para la discriminación de longitudes de onda, un sistema de presentación de muestras y detectores que convierten la energía radiante en señal eléctrica. Con la ayuda de un amplificador de alta tensión y bajo ruido, la señal que procede de los detectores es amplificada, para luego ser transmitida a un ordenador para ser procesada e interpretada posteriormente a través de sofisticados métodos estadísticos (Shenk y Westerhaus 1994). A continuación en la figura se explica el funcionamiento de un dispositivo NIRS.

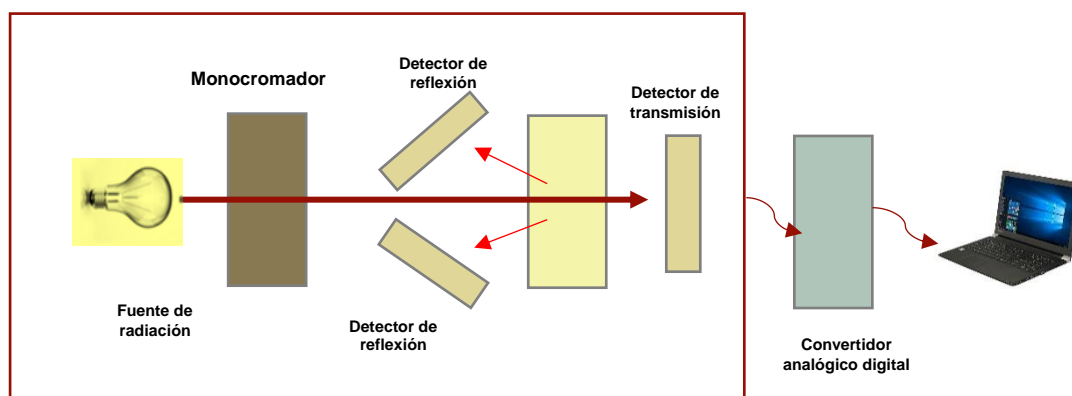


Figura 2. Diagrama esquemático de un dispositivo NIRS

Elaboración propia
Fuente: (Shenk and Westerhaus 1994)

La extracción de información analítica a partir de los datos de absorbancia se fundamenta en la aplicación de las matemáticas a la química analítica o también llamada quimiometría, donde se combina la espectroscopía, la estadística y la computación para generar modelos matemáticos que relacionan la composición química de una muestra con cambios en la absorción de energía en la región del espectro electromagnético correspondiente al rango del infrarrojo cercano. Dichos métodos quimiométricos ayudan a crear modelos de predicción desarrollando ecuaciones multivariantes de calibración basadas en herramientas matemáticas para combinar los resultados analíticos de un método confiable de referencia y la información sobre la cantidad de energía absorbida que obtenemos en los espectros como $\log 1/\text{Reflectancia}$ con el equipo NIRS (Vásquez et al. 2004).

1.3.2 Técnica NIRS para evaluar el estado nutricional forestal

En los últimos años se están desarrollando investigaciones en técnicas rápidas para el análisis de plantas forestales, como la tecnología NIRS para evaluar el estado nutricional de las plantas. Dentro de las investigaciones en el campo de la nutrición forestal con espectroscopía NIR, se han obtenido buenos resultados en la determinación de carbohidratos no estructurales en especies forestales para estimar el nivel de reservas de carbohidratos en plántulas de vivero (Palacios et al. 2001; Gamarra 2017). Asimismo en el campo del análisis de nutrientes en tejidos vegetales, Van Maarschalkerweerd y Husted (2015) realizaron una compilación de los resultados obtenidos en diferentes investigaciones para la predicción NIRS de elementos orgánicos y minerales, y la información sobre N, P y K se presenta en la Tabla 1. La precisión de los modelos de calibración se evalúa con el estadístico “Ratio Predicción-Desviación” (RPD) que es la relación entre la desviación estándar de los datos de referencia del colectivo de calibración y el error estándar de la validación cruzada. Cuanto mayor sea el valor de RPD, mejor será la capacidad predictiva del modelo de calibración desarrollado (Campo y Moreno-González 2014).

Tabla 1. Descripción general del éxito de calibración en algunos artículos bibliográficos

Autor	Especie vegetal estudiada	Tejido vegetal	Forma de presentación	RPD		
				N	P	K
Vázquez et al. 1995	Pastos	Hojas	Molida	3.9	1.5	1.8
Cheng et al. 2002	Hojas de caña de azúcar	Hojas	Molida		1.7	
Agnew et al. 2004	Pastos, ballico	Hojas	Molida	6.5		
Petisco et al. 2005	Especies leñosas (<i>Pinus</i> , <i>Quercus</i> , etc)	Hojas	Molida	4.3	2.3	
Gonzales et al. 2007	Alfalfa	Alfalfa	Molida		2.4	2.3
Petisco et al. 2008	Especies leñosas (<i>Pinus</i> , <i>Quercus</i> , etc)	Hojas	Molida			2.4
Huang et al. 2009	Paja (de arroz, de trigo)	Paja	Intacta			1.7
			Molida			2.6
Menesatti et al. 2010	Naranja	Hojas	Intacta	2.3	0.7	6.1
Ward et al. 2011	Pastos de pradera (<i>Juncus</i> , <i>Holcus</i>)	Hojas	Molida	1.8	1.4	1.8
Villatoro et al. 2012	Rúcula	Hojas	Molida	1.9		1.9
Liao et al. 2012	Árbol de sidra (mano de buda)	Hojas	Molida	2.5	1.4	1.2

Elaboración propia

Fuente: (Van Maarschalkerweerd y Husted 2015)

Según la tabla anterior se observa que el valor de RPD varía para cada elemento mineral. Mientras que para N se obtuvieron en general valores altos de RPD, para el P y K los valores de RPD son bajos, con excepción de los datos obtenidos por Menesatti et al. (2010) en la aplicación del NIRS en hojas de naranja para K que fueron excelentes, debido probablemente

a que en el estudio se parte de un rango de variación de la concentración de K pequeño; pero sin el mismo éxito con P donde obtiene los resultados más bajos al incluir muestras con concentraciones excesivas de P, que pueden hacer relativamente pobre el desempeño de las calibraciones NIRS (Hawkesford et al. 2012). En general, los resultados obtenidos para estos elementos minerales pueden considerarse aceptables si la variabilidad inicial en los niveles de P y K de las muestras utilizadas en la calibración es baja, y podrían mejorarse modificando la forma de presentación de las muestras (Van Maarschalkerweerd y Husted 2015).

Huang et. al. (2009) demostraron que los valores de RPD para K aumentaron significativamente (de 1.7 a 2.6) con el análisis de muestras secas y molidas en lugar de muestras intactas (cortadas sin moler). Además, la interpretación de la calidad de las calibraciones utilizando los valores de RPD se realiza utilizando una variedad de enfoques diferentes, de modo que el valor óptimo de RPD dependerá del uso previsto de las calibraciones (Chen et al. 2002). Otros resultados de trabajos más recientes, son los obtenidos en las investigaciones en especies de *Quercus* y de *Pinus*, como los de Pacho (2016) y Gamarra (2017) y se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Estudios recientes sobre calibración NIRS

Autor	Especie vegetal estudiada	Tejido vegetal	Forma de presentación	R ² _{cv}			RPD		
				N	P	K	N	P	K
Pacho, 2016	<i>Quercus ilex</i>	Raíz, tallo y hojas	Molida	0.96	0.46	0.32	5.23	1.35	1.22
Gamarra, 2017	<i>Pinus</i>	Raíz, tallo y acículas	Molida (en molino de bolas)	0,860	0,750	0,870	2,69	1,88	2,71

Elaboración propia

Fuente: (Pacho 2016 y Gamarra 2017)

Las ventajas del uso de la técnica NIRS para evaluar el estado nutricional de las plantas forestales son que, además de ser una técnica muy rápida y de bajo coste, por lo que se pueden analizar una gran cantidad de muestras, es una técnica de análisis libre de agentes químicos, y fácil de usar sin entrenamientos complicados. Además es una técnica multicomponente, ya que con una sola medición del espectro de la muestra, se puede disponer de resultados de muchas propiedades y varios constituyentes, mientras que realizar estos análisis a través de los métodos convencionales por vía húmeda demandaría mucho tiempo y un importante esfuerzo económico (Oliet 2018). Adicionalmente, la tecnología NIRS es respetuosa con el medio ambiente, ya que no es necesario emplear ningún tipo de reactivo, por tanto no existe el problema de eliminación de los residuos que se generan en los análisis por los métodos convencionales. El coste del equipo NIRS es elevado pero es una inversión fácilmente recuperable a corto o medio plazo (Ferrari et al. 2004) en especial para el análisis nutricional de plantas de vivero, dado el interés en la revegetación como una de las soluciones de restauración de ecosistemas deteriorados a causa de las actividades antrópicas.

1.3.3.1 Selección de muestras y obtención de los espectros de absorción

Para el desarrollo de una ecuación de calibración NIRS el primer paso es seleccionar las muestras que formarán parte del colectivo de calibración, que deberán ser representativas de la variabilidad del constituyente analítico en la población a evaluar y suficientes para la creación y validación del modelo. En general, cuanto mayor sea el rango de variación y el número de muestras representativas de toda la variabilidad del constituyente a analizar, la ecuación de calibración desarrollada presentará mayor capacidad de predicción (Shenk y Westerhaus 1994). Para obtener el espectro de absorción se realiza el escaneado de cada muestra en un equipo NIRS, por ejemplo el FOSS NIR System 5000 utilizado en este proyecto, con un rango de lectura entre 1100 a 2500nm. Los espectros se registran en unidades de absorbancia, como $\log 1/R$ donde R es la reflectancia.

1.3.3.2 Método de referencia

Para el desarrollo de las calibraciones NIRS, se requiere conocer previamente los resultados analíticos de todas las muestras para las variables que van a ser predichas. Para ello se utilizan los métodos analíticos oficiales de referencia o métodos convencionales, que consisten en el análisis por vía húmeda en un laboratorio que deberá proveer valores precisos y exactos (Cozzolino 1998) porque de esto va a depender la calidad de las ecuaciones de predicción.

1.3.3.3 Pretratamiento espectral

Previamente a la calibración y para evaluar la homogeneidad de los datos espectrales, es necesario la aplicación de algoritmos matemáticos para descartar muestras con espectros anómalos o escasamente representados en la población.

El software WinISI v.1.5. cuenta con un algoritmo llamado Center que realiza un análisis de componentes principales, calculando el espectro medio de la población espectral y las distancias de las muestras de esa población a dicho centro (Ares et al. 2004). Esto es el cálculo de la distancia de Mahalanobis o estadístico H, estandarizada al espectro medio para cada muestra y las muestras que poseen un H superior a 3, se clasifican como anómalas (Shenk y Westerhaus 1994). Para aplicar este algoritmo y eliminar ruidos que interfieren en los cálculos, se utilizan diferentes pretratamientos matemáticos de corrección de scatter, los más utilizados son SNV y DT. El SNV o Standard Normal Variate corrige variaciones de la línea base producida por la dispersión de la luz, para lo cual centra cada espectro, restando el valor medio de la absorbancia del espectro a los valores de absorbancia de cada longitud de onda, y divide todo ello por la desviación estándar. El DT o detrending elimina los efectos

de offset en la línea base y la pendiente o curvatura de los espectros, normalmente causados por el scatter. Para calcularlo se resta al espectro original, y es común aplicarlo junto a otros tratamientos como el SNV (Casal 2013).

1.3.3.4 Desarrollo del método de calibración

La calibración para desarrollar una ecuación de predicción NIRS consiste en la obtención de una relación matemática entre la información espectral de la población recogida a través del análisis NIRS y los valores analíticos obtenidos por el método de referencia. Una vez seleccionadas las muestras de calibración y analizadas mediante el método de referencia y NIRS, se emplean diferentes métodos de regresión multivariable, como el método de regresión por mínimos cuadrados parciales modificado (MPLS) que considera la matriz de datos espectrales y también la matriz de los datos de referencia. Para calcular dicha relación se usa el algoritmo de validación cruzada y se van desarrollando ecuaciones con n términos. Este número de términos se determina automáticamente minimizando el error de validación cruzada y empleando el estadístico T student para cuantificar la diferencia entre los valores de referencia y los predichos mediante la calibración NIRS, donde una diferencia mayor a 2,5 indica que existe un error en los datos de referencia o en el espectro (Howard y Workman 1991; Shenk y Westerhaus 1994).

En este TFM, las ecuaciones se desarrollaron con el programa WinISI v.1.5 combinando diferentes tratamientos matemáticos representados por 4 dígitos (a,b,c,d), donde a es el orden de magnitud de la derivada, b es el tamaño del segmento sobre el que se realiza la derivación, c y d muestran el tamaño de los intervalos para la suavización de la derivada (Gómez et al. 2012). Los estadísticos empleados en la evaluación y selección de las ecuaciones de calibración son los siguientes:

- R^2_{cv} o coeficiente de determinación de validación cruzada, que es el porcentaje de la variación existente para el constituyente considerado en el colectivo de calibración explicado por la ecuación; será más precisa cuanto mayor sea el valor y más próximo esté a 1.
- SECV, ETVC o error estándar de validación cruzada, que describe como se ajustan las muestras del colectivo de calibración al modelo de regresión utilizado para calcular la ecuación, cuanto más próximo a 0, será mejor el ajuste.
- RPD o Residual Prediction Desviation o desviación residual predictiva; que es la relación entre la desviación estándar de los datos de referencia de calibración y el SECV. Valores superiores a 2.25 son adecuados para ser utilizados con criterios de diagnóstico e investigación en temas de estado nutricional de plantas y temas ambientales; valores mayores a 4 son excelentes para la predicción de constituyentes químicos de tejidos vegetales (Ares et al. 2004; Campo y Moreno-González 2014).

1.3.3.5 Evaluación y selección del modelo de calibración

La selección del mejor modelo de predicción para elementos minerales N, P y K se basa en los estadísticos de calibración obtenidos (Shenk y Westerhaus 1994; Campo y Moreno-González 2014), teniendo en cuenta lo siguiente:

- Valores altos del coeficiente de determinación de validación cruzada o R^2_{cv} (ver Tabla 3), próximos a 0.9, indican una excelente precisión de las calibraciones;
- Valores bajos del error estándar de validación cruzada (SECV).
- Valores altos de RPD indican, que la capacidad del modelo de calibración será mayor para predecir con exactitud los valores del parámetro de referencia, considerando como valor umbral un RPD superior a 2.25 para una excelente precisión de la predicción; y
- Número bajo de términos de la ecuación elaborada (F).

Tabla 3. Nivel de precisión según valores de R^2_{cv}

Valores de R^2_{cv}	Descripción
0,90 a más	Excelente precisión.
0,89 - 0,70	Buena precisión
0,69 - 0,50	Buena separación entre valores bajos, medios y altos.
0,30 - 0,49	Correcta separación entre valores bajos y altos.
0.05 - 0.29	Mejor no analizar.

Fuente: (Shenk y Westerhaus 1994)

2 CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN

Dado que los métodos de análisis convencionales de elementos minerales en tejidos vegetales tienen un elevado coste económico y de tiempo, y dada la necesidad de conocer mejor la calidad de las plantas de vivero para una revegetación exitosa, en este TFM se estudia la aplicación de la técnica NIRS para la determinación del análisis nutricional de planta forestal de vivero. Esta tecnología permite disponer de ecuaciones de predicción de los contenidos minerales exclusivamente a partir de su información espectral de una forma precisa, rápida y económica, ya que no se realizan análisis químicos, ni exige preparación de reactivos. Además permite determinar varios parámetros simultáneamente lo que puede mejorar la capacidad predictiva de la calidad de planta en relación con el éxito posterior en el trasplante.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo la elaboración de un modelo de predicción NIRS del contenido de elementos minerales presente en tres especies forestales de *Quercus* cultivadas en vivero. Las tres especies de *Quercus* que forman parte del trabajo son *Quercus ilex*, *Quercus pubescens* y *Quercus robur*, con gran importancia ecológica y económica. Algunas de estas especies dominan en muchas áreas mediterráneas, por lo que se consideran taxones importantes para la restauración.

Con la elaboración de estos modelos de predicción, se pretende conseguir calibraciones satisfactorias que permitan avanzar en el desarrollo de técnicas de evaluación de la calidad de planta forestal para futuras revegetaciones y optimizar las prácticas de fertilización.

3 CAPÍTULO III: OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Elaborar un modelo de predicción del estado nutricional de elementos minerales N, P y K en tres especies de *Quercus* (*Quercus ilex*, *Quercus pubescens* y *Quercus robur*) cultivadas en vivero, mediante la tecnología de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar un modelo global de predicción NIRS para evaluar el estado nutricional de los elementos minerales N, P y K en plantas de vivero del genero *Quercus*.
- Elaborar modelos de predicción NIRS para evaluar el estado nutricional de los elementos minerales N, P y K según tejidos vegetales y según cada una de las tres especies de *Quercus*.
- Evaluar si la precisión del modelo de predicción seleccionado mejora elaborando modelos de predicción para los diferentes colectivos de calibración.
- Profundizar en el conocimiento de la tecnología NIRS en el campo de la caracterización nutricional de tejidos vegetales.

4 CAPÍTULO IV: ANÁLISIS EXPERIMENTAL

4.1 UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Zootecnia de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y Biosistemas, el cual está adscrito al Departamento de Producción Agraria de la Universidad Politécnica de Madrid.

Asimismo los valores analíticos de referencia de los elementos minerales N, P, y K se analizaron en el laboratorio NUTRILAB que forma parte de la Red de Laboratorios de la Universidad Rey Juan Carlos REDLABU, integrada a su vez en la Red de Laboratorios de Investigación de la Comunidad de Madrid REDLAB.

Las muestras de las especies *Quercus ilex*, *Quercus pubescens* y *Quercus robur* proceden de un proyecto experimental en un vivero de la Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agrari, Alimentari e Forestali (GESAAF) en Italia, para ensayar niveles de fertilización y tipos de sustrato.

4.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Para el desarrollo del análisis de los tejidos vegetales de cada una de las especies de *Quercus*, se utilizaron los siguientes materiales y equipos.

Materiales:

- Muestras secas y molidas en molino de bolas de raíces, tallos y hojas de las tres especies de *Quercus*
- Crisoles de porcelana de forma baja de 34 ml de capacidad
- Pincel de forma redonda nº16 y pincel de forma plana nº20
- 2 Cajas de cartón tamaño 700*700*350 mm
- Cápsulas rectangulares NIRS de ¼
- Alcohol sanitario de 96°
- Hojas Bond recicladas
- Mandil
- Guantes
- Algodón

Equipos:

- Equipo monocromador FOSS NIR System 5000
- Ordenador con Windows XP 32 bits
- Software WinISI v.1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA)
- Estufa de laboratorio de 100 grados centígrados
- Reloj digital

4.3 METODOLOGÍA

4.3.1 ORÍGEN DE MUESTRAS

El trabajo consistió en el análisis de 324 muestras de tres especies del género *Quercus*.



Figura 3. Muestras de especies *Quercus ilex*, *Quercus pubescens* y *Quercus robur*

Fuente: Elaboración propia

Estas muestras provienen de un experimento factorial, y presenta tres factores:

- Especies: *Quercus ilex* (Qi), *Quercus pubescens* (Qp) y *Quercus robur* (Qr).
- Tratamiento de fertilización: fertilización estándar (ST), fertilización con más fósforo (P) y fertilización con más potasio (K).
- Tipo de sustrato: fibra de coco (Co) y turba rubia (Pe).

Los tratamientos se dispusieron en tres bloques experimentales (B1, B2 y B3), cada uno conteniendo una bandeja con la combinación de los tres factores nombrados anteriormente. Asimismo se obtuvo dos grupos de muestra (SA1 y SA2), obtenida al moler mediante un molino de bolas 2 o 3 plantas de cada bandeja. Asimismo para cada especie se tenía tres tipos de tejido vegetal: raíz, tallo y hoja.

A continuación, se muestra el modelo de la distribución para cada bloque experimental.

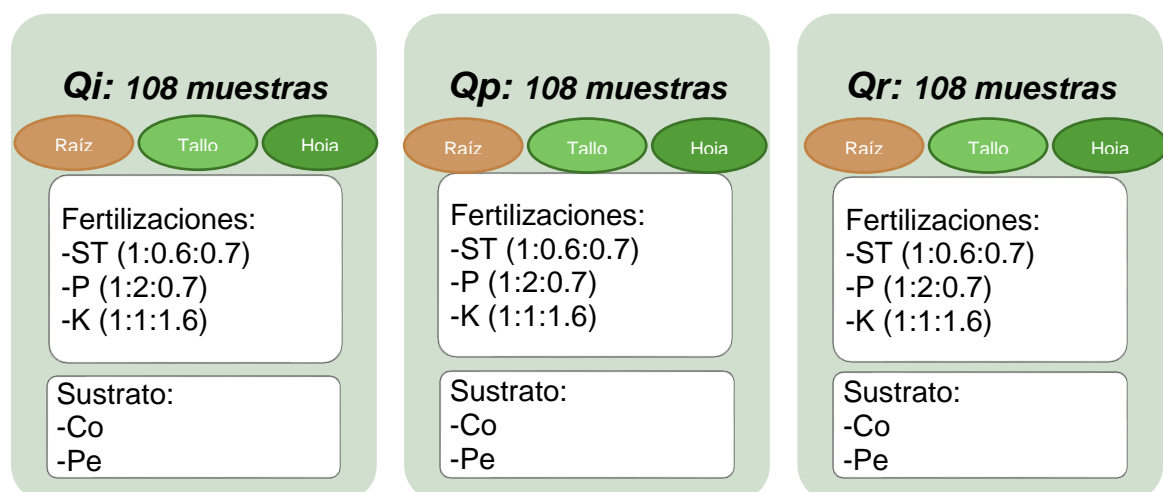


Figura 4. Distribución bloque experimental de muestras

Fuente: Elaboración propia

El procedimiento utilizado por el laboratorio de referencia para analizar N, P, y K basados en protocolos anteriores (McKean 1993; Radojevik y Bashkin 1999), es el siguiente:

El nitrógeno es analizado mediante el método Kjeldahl donde se determina la concentración de N en la materia vegetal. Se caracteriza por primero realizar una digestión a temperatura alta con H_2SO_4 concentrado que efectúa la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y la reducción del nitrógeno orgánico a amonio (NH^{+4}) inorgánico, formando sulfato de amonio; y en segundo lugar se determina el NH^{+4} después de la digestión, midiendo la cantidad de amoniaco (NH^3) liberado de la solución digestada por destilación con álcali. El amoniaco liberado es retenido en una solución de ácido bórico, la solución se titula con HCL, determinando el N en la muestra por medio de la cantidad de ácido usado en la titulación. El fósforo se determina después de una digestión con ácido al igual que el nitrógeno, donde se convierte, por medio de oxidación, en la forma de fosfato, el cual se puede leer por colorimetría. El potasio se determina después de la destrucción de materia orgánica en el tejido por medio de una digestión ácida con ácido nítrico 65 % (HNO_3), ácido perclórico 70 % (HClO_4) y ácido clorhídrico 6M (HCl). Se hace la determinación del porcentaje de K en el tejido por emisión directamente en el digestado e inmediatamente después de agitarlo, a través de un espectrofotómetro de llama acoplado al automuestreador para su valoración.

4.3.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Para el análisis NIRS, las 324 muestras de las especies de *Quercus* se colocaron en crisoles y fueron secadas en estufa a una temperatura de 50° C durante 24 horas.



Figura 5. Crisoles con las muestras colocadas en estufa para secado

Fuente: Elaboración propia

Posteriormente al secado se homogenizaron y se tomó una cantidad suficiente y representativa de muestra para rellenar las cápsulas rectangulares con ventana de cuarzo de $\frac{1}{4}$ que fueron llevadas a lectura, teniendo cuidado de que no se formen partes gruesas.

Se prepararon dos cápsulas por muestra, y en los casos donde no hubo suficiente muestra para preparar las dos cápsulas, la lectura se realizó con la misma muestra vaciando y rellenando de nuevo la cápsula.



Figura 6. Preparación de muestra y colocado en cápsula rectangular $\frac{1}{4}$

Fuente: Elaboración propia

4.3.3 TOMA DE ESPECTROS

Los espectros NIRS de todas las muestras se registraron como logaritmo $\log 1/R$, donde R es la reflectancia, utilizando un equipo FOSS NIR System 5000 con un rango de lectura de 1100 a 2500 nm. Las muestras fueron también analizadas por vía húmeda con los métodos de referencia y, a continuación, estos datos se asociaron con los espectros incorporándolos en el programa WinISI v.1.5. para el desarrollo de los modelos de calibración.

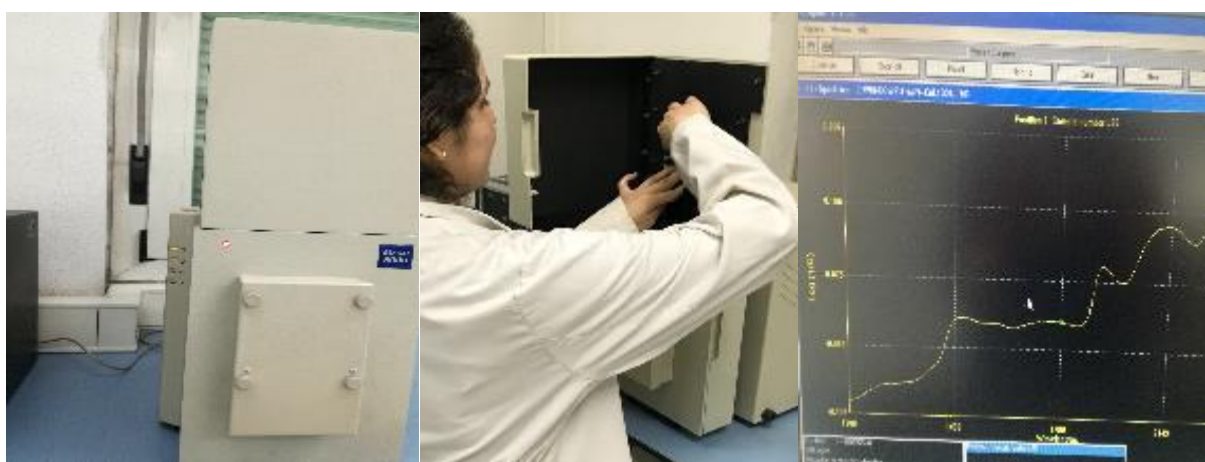


Figura 7. Equipo analizador FOSS NIR System 5000, colocado de cápsulas de muestras, y espectro tomado y almacenado con el programa WinISI v.1.5.

Fuente: Elaboración propia

4.3.4 CALIBRACIÓN DE RUTINA Y DESARROLLO DE MODELOS DE PREDICCIÓN

La calibración de rutina se realiza para poder elaborar modelos globales de predicción NIRS que permitan evaluar el estado nutricional de los elementos minerales N, P y K en diferentes tejidos de plantas del género *Quercus*. Posteriormente la calibración se realiza también separando los colectivos de muestras según tejidos vegetales y según especies de *Quercus* para observar si mejora la precisión del modelo global seleccionado.

Para eliminar las posibles muestras anómalas del colectivo final de calibración, se aplican diferentes pretratamientos de la señal espectral para la corrección del scatter, con las combinaciones de None, Standard Normal Variate (SNV) y Detrend (DT), y las transformaciones matemáticas (1, 5, 5, 1) y (2, 10, 10, 1). Como se describió en el apartado 1.3.3.4., el primer dígito corresponde al orden de la derivada, primera o segunda derivada, para reducir problemas por causa del tamaño de partícula; el segundo dígito indica el tamaño del segmento de derivación, el tercero se refiere al tamaño de los segmentos de suavización y el cuarto hace referencia al segundo suavizado (Soldado et al. 2008).

El cálculo de la distancia de Mahalanobis primero se realiza en el colectivo global de 324 espectros, donde se obtuvieron 5 muestras anómalas, que se analizaron nuevamente con el equipo FOSS NIR System 5000. Los resultados confirmaron su descarte, y se eliminaron definitivamente de nuestra población inicial de 324 muestras, quedando 319, que fueron usadas para el desarrollo de las calibraciones de rutina. El mismo procedimiento se realizó para los colectivos según tejido vegetal y según especies de *Quercus*. Para el colectivo según tejidos raíz, tallo y hojas, se obtuvieron 0, 1 y 2 muestras anómalas, quedando definitivamente 108, 107 y 106 muestras respectivamente; y para el colectivo según especies de *Quercus* se obtuvieron 2 muestras anómalas por especie, quedando definitivamente 106 muestras por especie, que fueron usadas para el desarrollo de las calibraciones de rutina.

Para desarrollar el modelo global de predicción se utilizaron 12 tratamientos matemáticos de la señal espectral combinando dos tipos de ancho de banda de lectura del espectro (2 y 8 nm), tres tipos de corrección de scatter: None, Standard Normal Variate & Detrend y Detrend only, y dos tipos de transformaciones matemáticas (1,5,5,1) y (2,10,10,1).

A continuación en la Tabla 4 se muestran los tratamientos aplicados para el desarrollo de los modelos de predicción de los tres colectivos.

Tabla 4. Modelos globales de predicción aplicados

Modelos	Corrección de scatter	Rango de longitud de onda; intervalo lectura	Tratamiento matemático
M1	None	1106-2490;2	1,5,5,1
M2	None	1106-2490;8	1,5,5,1
M3	None	1106-2490;2	2,10,10,1
M4	None	1106-2490;8	2,10,10,1
M5	SNV and Detrend	1106-2490;2	1,5,5,1
M6	SNV and Detrend	1106-2490;8	1,5,5,1
M7	SNV and Detrend	1106-2490;2	2,10,10,1
M8	SNV and Detrend	1106-2490;8	2,10,10,1
M9	Detrend	1106-2490;2	1,5,5,1
M10	Detrend	1106-2490;8	1,5,5,1
M11	Detrend	1106-2490;2	2,10,10,1
M12	Detrend	1106-2490;8	2,10,10,1

Estos tratamientos se realizaron para cada elemento mineral N, P y K, dando lugar al número de tratamientos que se indica a continuación:

- Según colectivo global, 36 tratamientos aplicados.
- Según tejidos vegetales, 36 tratamientos aplicados para raíz, 36 para tallo y 36 para hojas, lo que sumaría 108 tratamientos.
- Según especies de *Quercus*, 36 tratamientos aplicados para *Q. ilex*, 36 para *Q. pubescens* y 36 para *Q. robur*, lo que sumaría 108 tratamientos.

En total se realizaron 252 tratamientos matemáticos con el software WinISI v.1.5 para seleccionar las librerías espectrales de cada colectivo de calibración (global, por tejido vegetal y por especie de *Quercus*).

Con la librería espectral obtenida para cada colectivo de muestras, se generaron ecuaciones de calibración. Primero se realizó la selección del mejor tratamiento matemático para corregir el *scatter*. Con dicho tratamiento matemático, se calcularon ecuaciones de calibración para el colectivo global de muestras, para el colectivo según tejido vegetal (raíz, tallo y hojas); y para el colectivo según la especie de *Quercus* (*Q. ilex*, *Q. pubescens* y *Q. robur*).

Se elaboró una base de datos en el software WinISI combinando los espectros y todos los resultados analíticos obtenidos en el laboratorio vía húmeda, y se desarrollaron ecuaciones de calibración empleando el método regresión de mínimos cuadrados parciales modificados (MPLS) con validación cruzada. Los estadísticos para seleccionar las mejores ecuaciones fueron el coeficiente de determinación de validación cruzada (R^2_{CV}), error estándar de calibración cruzada (SECV), número de términos (F) y el RPD. Se destaca que no existe una regla general para seleccionar el mejor modelo basándose en los estadísticos anteriores, pero si recomendaciones propuestas en diferentes investigaciones (Ares et al. 2004; Campo y Moreno 2014) (ver apartado 1.3.3).

Para analizar la distribución de las concentraciones de los tres elementos minerales N, P y K en los tres colectivos, se utilizó el histograma, que es la representación gráfica más usada para datos agrupados, y realiza su análisis e interpretación a través de cualquier herramienta estadística que permita el cálculo de las frecuencias definiendo sus clases o intervalos (Gorjas et al. 2011). Cada histograma elaborado muestra la variación de los datos analíticos de cada elemento mineral de un colectivo de muestras para valorar si se distribuyen uniformemente en el rango de variación de las concentraciones mínimas y máximas; y se elaboran tanto para el colectivo global como para el colectivo según tejido vegetal y según especie de *Quercus*.

Para analizar la representación gráfica de la relación de los valores de referencia y los valores predichos obtenidos para los elementos minerales N, P y K, así como también el comportamiento de las muestras outliers o anómalas definidas por el software, para cada elemento, se elaboran gráficos de dispersión, según el modelo de calibración seleccionado. Las muestras outliers de cada colectivo de calibración no fueron tomadas en cuenta para la construcción de la recta de regresión en cada gráfico.

5 CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores analíticos de referencia para el N, P, y K de las muestras analizadas en el laboratorio, se recopilaron en una base de datos según colectivos de calibración: global, según tejidos vegetales y según las tres especies de *Quercus* diferentes. En la Tabla 5 se muestra la estadística descriptiva del colectivo de calibración: el número de datos analíticos, valor medio, desviación estándar y coeficiente de variación de cada elemento mineral.

Tabla 5. Valores analíticos de N, P, y K obtenidos por método de referencia

Colectivos de calibración		N				P				K			
		n	MEDIA	SD	CV	n	MEDIA	SD	CV	n	MEDIA	SD	CV
Global		319	7.62	4.19	54.98	319	1.14	0.527	46.39	319	6.68	2.75	41.22
Tejidos vegetales	Raíz	108	4.77	1.07	22.35	108	1.06	0.259	24.31	108	5.69	1.86	32.67
	Tallo	107	4.85	0.999	20.61	107	0.929	0.253	27.28	107	6.78	3.34	49.16
	Hojas	106	13.27	1.72	12.95	106	1.43	0.759	53.15	106	7.57	2.51	33.16
Especies de <i>Quercus</i>	<i>Q. ilex</i>	106	6.86	3.95	57.51	106	0.842	0.149	17.63	106	8.09	1.95	24.09
	<i>Q. pubescens</i>	106	7.80	4.13	52.99	106	1.29	0.366	28.40	106	6.59	1.34	20.39
	<i>Q. robur</i>	106	8.14	4.35	53.40	106	1.28	0.742	58.09	106	5.32	3.63	68.25

Nota: n=número de datos analíticos; Media=promedio aritmético (mg/g); SD=desviación estándar (mg/g); CV=coeficiente de variación (%)

5.1 Desarrollo de modelo de predicción según colectivo global

Los estadísticos de calibración obtenidos con la aplicación de los 12 modelos matemáticos evaluados se presentan a continuación en la Tabla 6, indicando en rojo el modelo seleccionado para el colectivo global de muestras.

El modelo de calibración M7, con corrección de scatter SNV and Detrend y 2° derivada espectral fue el que presentó el mejor ajuste, ya que presentó un alto coeficiente de determinación de validación cruzada (R^2_{CV}), alto RPD, bajo número de términos (F), y bajo error estándar de validación cruzada (SECV) como se muestra en la Tabla 6.

Este modelo M7 presentó un SECV de 0.47; 0.20 y 1.67%, un R^2_{CV} de 0.987; 0.692 y 0.518 y un RPD de 8.81, 1.80 y 1.44 para N, P, y K, respectivamente. Estos datos confirman la excelente capacidad predictiva NIRS para el N; y moderada, con buena separación entre valores bajos, medios y altos, para los constituyentes minerales P y K.

Tabla 6. Estadísticos de calibración de los modelos globales generados

Modelo	N				P				K			
	F	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	SECV	R ² _{cv}	RPD
M1	14	0.471	0.987	8.82	14	0.212	0.655	1.70	11	1.70	0.497	1.41
M2	14	0.467	0.987	8.84	15	0.207	0.669	1.74	12	1.69	0.506	1.42
M3	12	0.504	0.985	8.29	13	0.204	0.685	1.78	10	1.70	0.502	1.42
M4	11	0.517	0.985	8.08	13	0.203	0.687	1.79	10	1.69	0.503	1.42
M5	13	0.469	0.987	8.81	11	0.221	0.641	1.67	10	1.69	0.501	1.42
M6	13	0.466	0.987	8.86	11	0.221	0.642	1.67	10	1.69	0.496	1.41
M7	13	0.471	0.987	8.81	13	0.201	0.692	1.80	12	1.67	0.518	1.44
M8	13	0.472	0.987	8.79	13	0.202	0.691	1.80	11	1.66	0.522	1.45
M9	13	0.488	0.986	8.54	11	0.225	0.611	1.60	10	1.72	0.480	1.39
M10	14	0.489	0.986	8.53	11	0.224	0.612	1.60	11	1.70	0.489	1.40
M11	11	0.513	0.985	8.16	13	0.204	0.684	1.78	10	1.70	0.503	1.42
M12	11	0.518	0.985	8.06	13	0.203	0.686	1.79	10	1.69	0.504	1.42

Nota: F=número de términos de la regresión; SECV=error estándar de validación cruzada; R²_{cv}=coeficiente de determinación en validación cruzada; RPD=relación entre la desviación estándar de los datos de referencia y el SECV.

En el caso del estadístico RPD, observamos que el RPD de N llega a ser mayor a 2.25 indicando una excelente capacidad predictiva, pero en el caso de P y K se obtienen valores de RPD inferiores a 2. Sin embargo, en ocasiones el RPD es bajo debido a que la desviación estándar de la población de calibración es pequeña, y esto no significa que la ecuación no sea buena (Ares et al. 2004). Según la mayoría de autores, los valores de RPD deben ser mayores de 2.25 para ser utilizados como modelos predictivos, pero otros investigadores consideran valores de RPD entre 1.4 y 2.0 como satisfactorios que pueden ser utilizados para obtener predicciones de exactitud media y que pueden mejorarse con el uso de otras estrategias de calibración (Ares et al. 2004; Macias et al. 2015).

Comparando los resultados obtenidos en el presente TFM con los de un trabajo anterior realizado por Pacho (2016) para *Quercus ilex* (ver apartado 1.3.2.), los resultados obtenidos en el presente TFM han mejorado la precisión. Como indica Gamarra (2017) puede ser porque la molienda realizada en el trabajo de Pacho (2016) no fue realizada con molino de bolas, que hace que sean más precisas las lecturas de los espectros en el equipo NIRS. Las muestras molidas por el método convencional presentan menor uniformidad para la lectura del espectro (Guerrero et al. 2008). Por eso el presente trabajo de investigación reafirma la importancia de la molienda y homogenización de las muestras para obtener los mejores resultados de predicción en el momento de la lectura de espectros con el equipo NIRS.

Asimismo, comparando los valores de RPD obtenidos en el presente trabajo con los obtenidos por diferentes autores en estudios anteriores (ver apartado 1.3.2.) se observa que, en el caso de N, se obtiene un valor de RPD mucho más alto que la mayoría de investigaciones, lo que indica la ecuación de calibración obtenida para N en este trabajo es excelente. En el caso de P y K la mayoría de valores de RPD son similares a los resultados obtenidos en esta investigación, menores a 2.25, que como indican Ares et al. (2004) no significan que las ecuaciones no sean buenas y pueden ser debido a que la desviación estándar de la población inicial es un valor pequeño.

Se elaboró los histogramas para N, P y K del colectivo global de muestras, y se muestran a continuación en las figuras 8, 9 y 10.

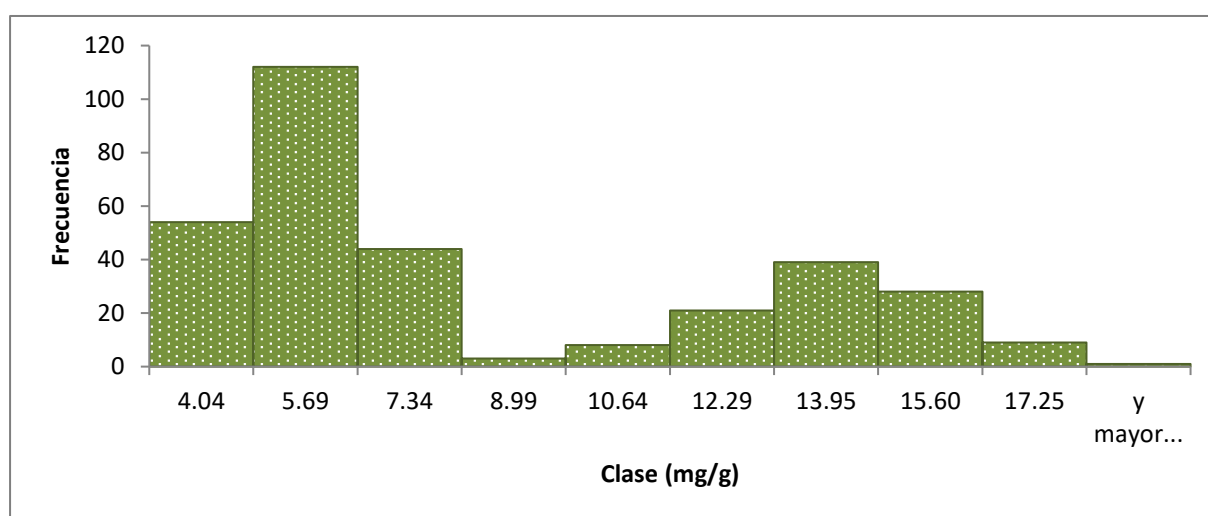


Figura 8. N° de muestras en función de la concentración de N en el colectivo global (n=319)

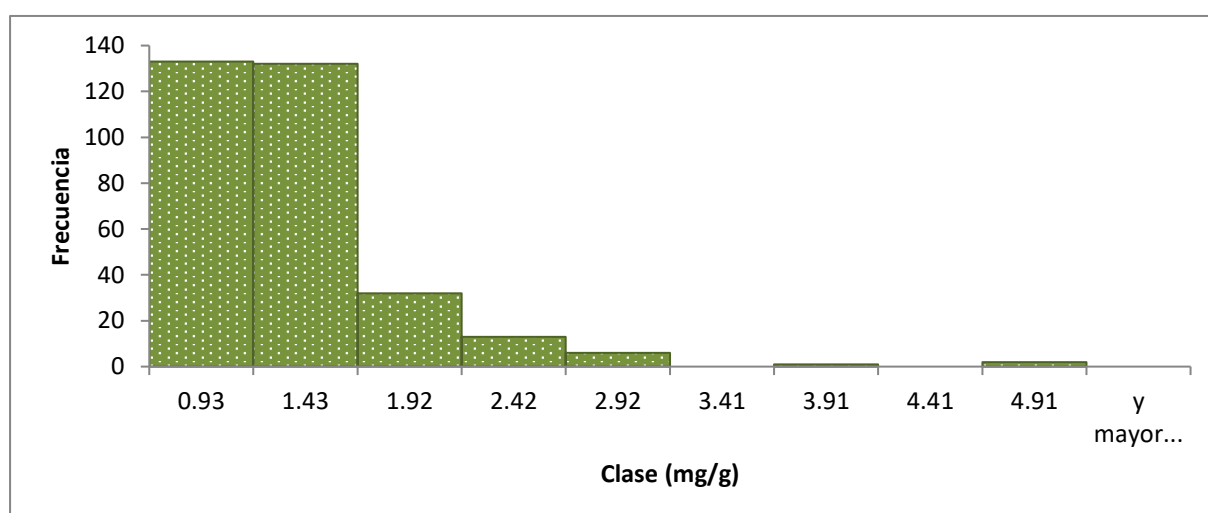


Figura 9. N° de muestras en función de la concentración de P en el colectivo global (n=319)

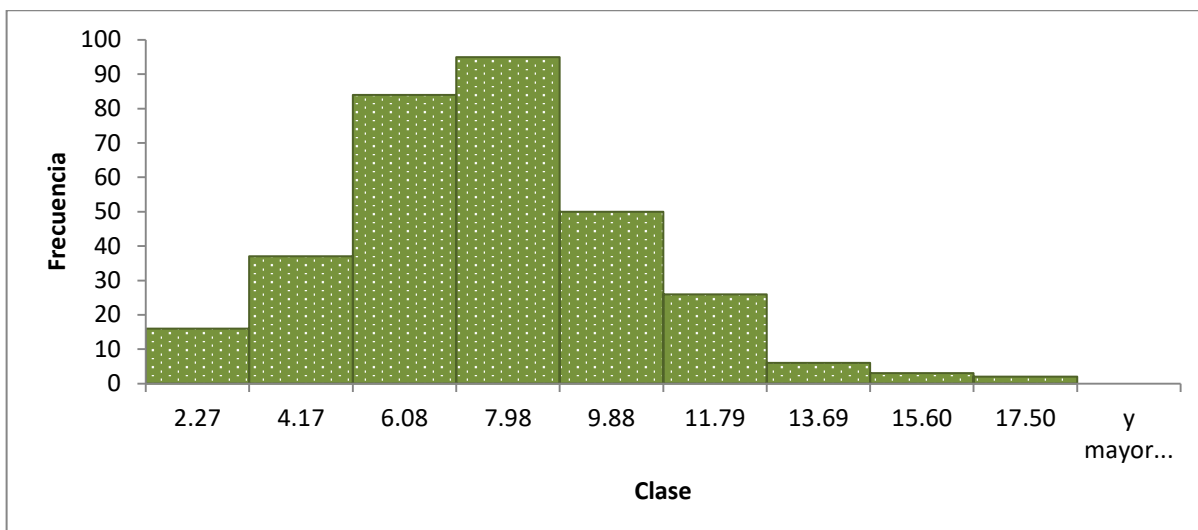


Figura 10. N° de muestras en función de la concentración de K en el colectivo global (n=319)

Se observa que la distribución es asimétrica para los tres elementos minerales. El N (ver Figura 8) muestra una distribución bimodal asimétrica, ya que tiene dos grupos de muestras en el rango de variabilidad composicional en correspondencia con la fracción de la planta. En el primer grupo, formado en su gran mayoría por tallos y raíces (ver apartado 5.2. para comprobar los rangos de cada elemento por fracciones de la planta), con concentraciones menores a 7.34 mg/g, y el segundo grupo formado mayormente por hojas, con concentraciones mayores a 7.34 mg/g. Por lo que se observa que existe una mayor concentración de N en el segundo grupo de muestras conformado por hojas.

En el caso de P (ver Figura 9) se observa una distribución asimétrica a la derecha con valores no representados en la porción superior de la distribución, y teniendo un rango de concentración de 0.43-4.91 mg/g. En el caso de K (ver Figura 10) se observa una distribución asimétrica a la derecha, pero con una buena representación de las muestras en todo el rango de concentración a diferencia de P, y tiene un rango de concentración de 0.36-17.50 mg/g.

En la calibración de rutina para cada elemento mineral según el modelo de calibración seleccionado (M7), se obtuvo con el software 26 muestras outliers o anómalas en total: 5 para el nitrógeno (N), 11 para el fósforo (P) y 10 para el potasio (K), teniendo una descripción detallada de las mismas en el Anexo 2.

A continuación se elabora los gráficos que representa la relación de los valores de referencia y los valores predichos obtenidos para los elementos minerales N, P y K, así como también el comportamiento de las muestras outliers para cada elemento.

Se puede observar que para N (Figura 11) la recta de regresión obtenida en este trabajo es prácticamente perfecta, con un R^2 de 0.989. Así también para P y K (Figura 12 y 13) los valores de R^2 de la recta de regresión son de 0.747 y 0.632 respectivamente, lo que indica que la precisión de la ecuación de calibración NIRS es buena pero no excelente.

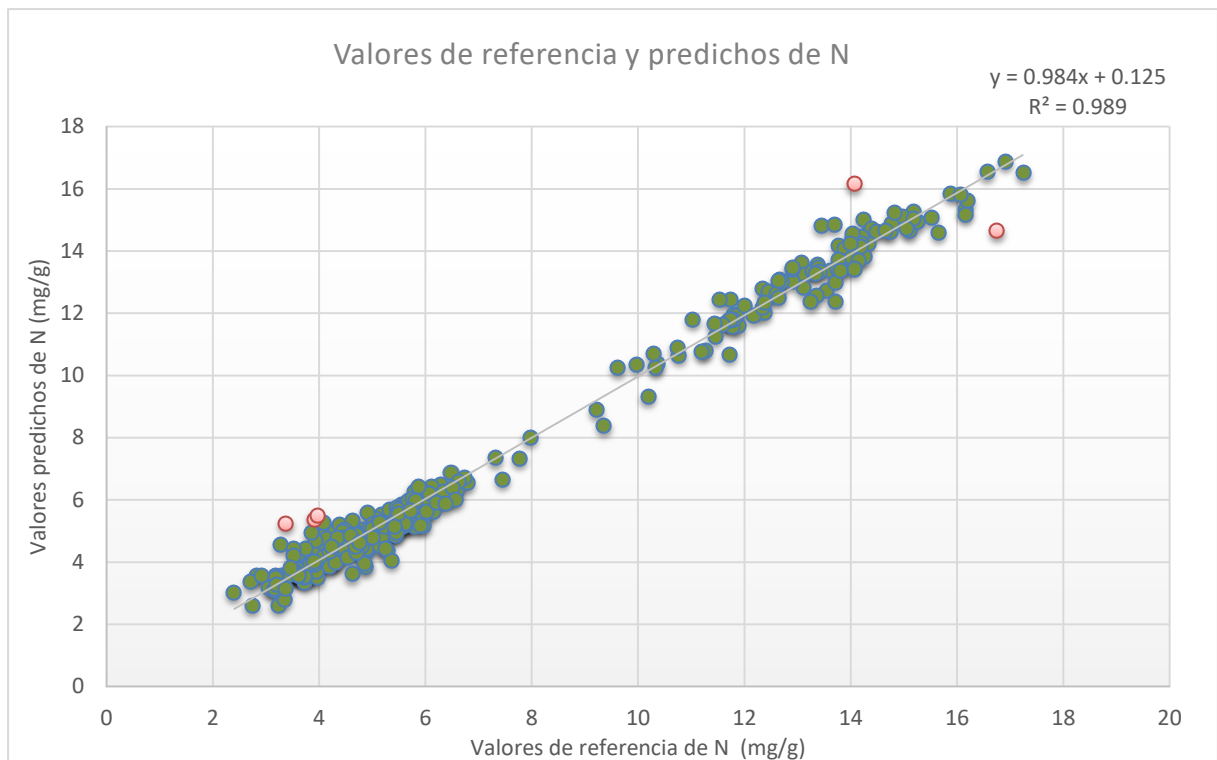


Figura 11. Calibración de rutina para el nitrógeno

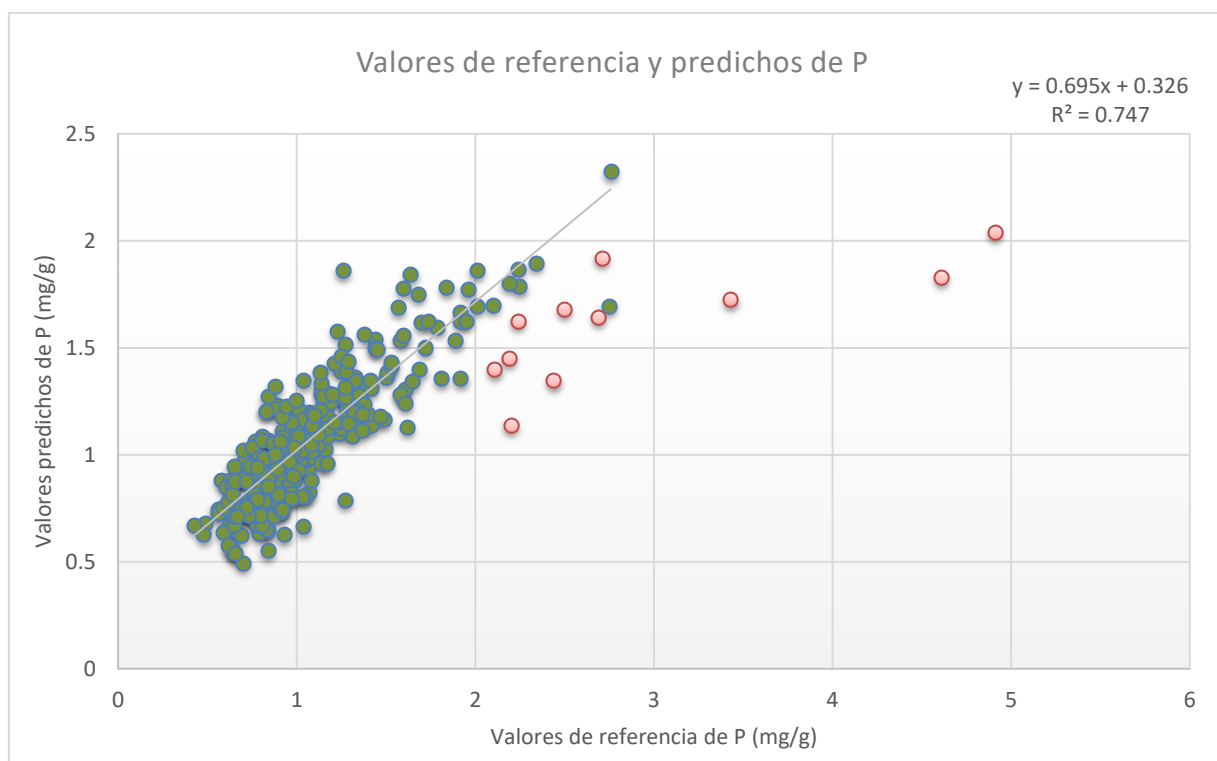


Figura 12. Calibración de rutina para el fósforo

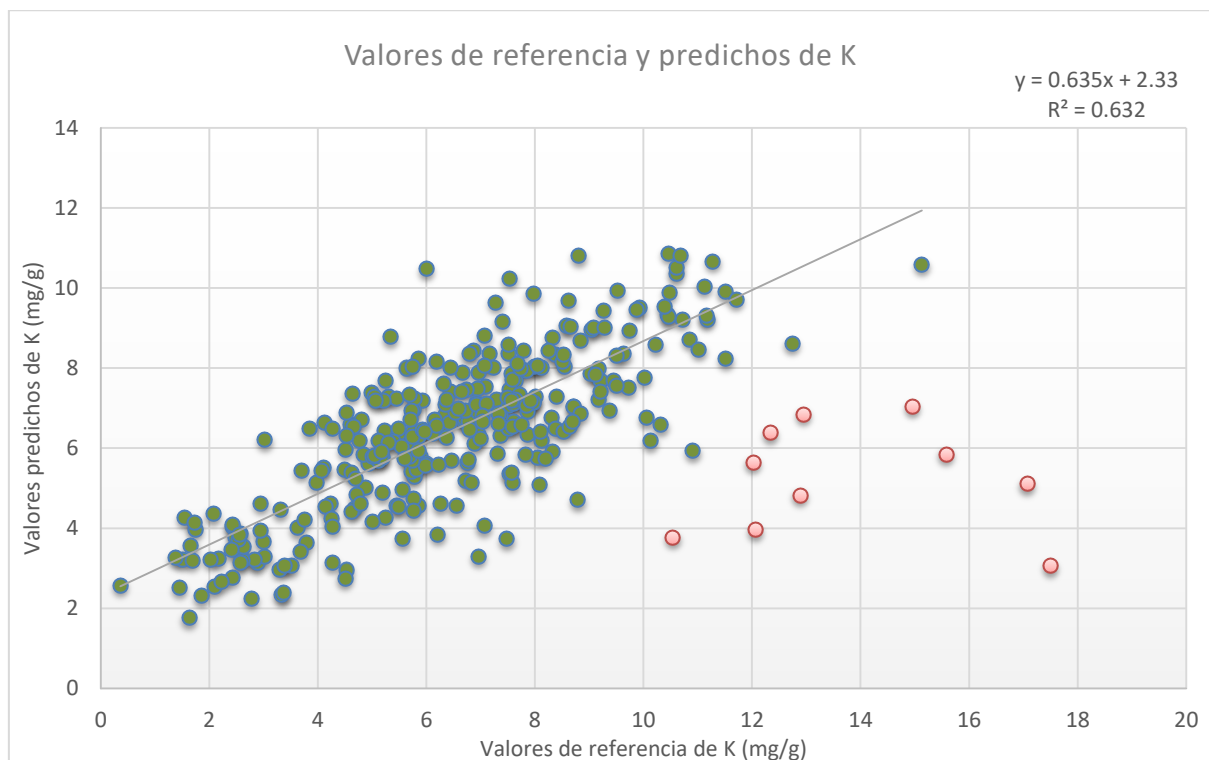


Figura 13. Calibración de rutina para el potasio

Para las 26 muestras outliers obtenidas de los tres elementos minerales N, P y K (ver Anexo 2), y representadas de color rojo en los gráficos anteriores, se puede destacar lo siguiente:

- En cuanto al tipo de sustrato en el que fueron cultivadas, las muestras anómalas obtenidas aparecen por igual tanto en sustrato de turba rubia como en fibra de coco, por lo que el tipo de sustrato no influye en los resultados obtenidos.
- En cuanto a los tratamientos de fertilización aplicados explicados en el diseño experimental (ver apartado 4.3.1.), al identificar el tratamiento de cada una de las muestras anómalas, se observa que el 46% de las muestras fueron fertilizadas con mayor cantidad de K, presentando concentraciones mayores de este elemento. Dado que el K se acumula preferentemente en forma inorgánica en los tejidos vegetales, al realizar la lectura NIRS no puede detectarse con precisión la abundancia del elemento (Ciavarella et al. 1998).
- En cuanto a las especies de *Quercus*, se observó que de las 26 muestras anómalas del colectivo global para los tres elementos minerales, el 77% de muestras pertenecen a hojas de *Q. robur*, siendo las peores predicciones las que corresponden a K. Esto se podría deber a diferencias específicas en la incorporación de nutrientes minerales en moléculas orgánicas (Hawkesford et al. 2012) aunque no se descarta otras posibles hipótesis relacionadas con otros aspectos metodológicos. Por tanto se procedió a desarrollar ecuaciones de calibración según tejidos vegetales y según especies de *Quercus* para observar si la precisión del modelo global seleccionado podría ser mejorada.

5.2 Desarrollo de modelo de predicción según tejidos vegetales

A continuación en las figuras 14, 15 y 16 se muestran los histogramas de frecuencias del colectivo de muestras según tejido vegetal para los tres elementos minerales N, P y K.

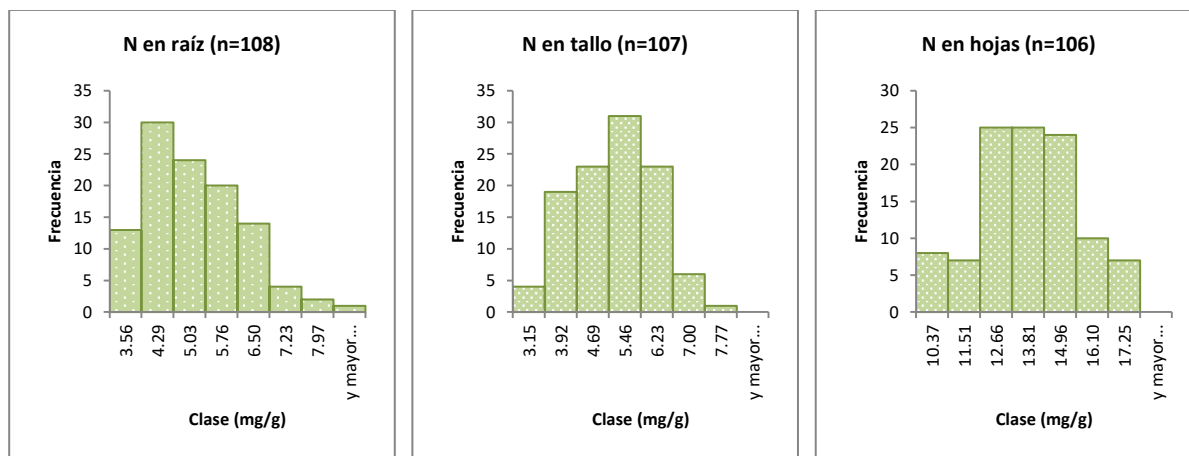


Figura 14. N° de muestras en función de la concentración de N en el colectivo según tejido vegetal

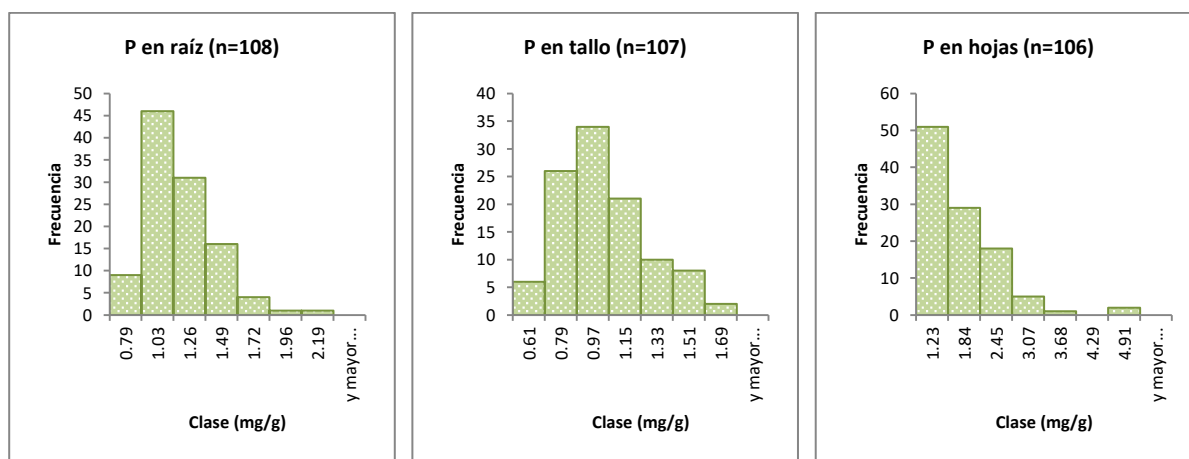


Figura 15. N° de muestras en función de la concentración de P en el colectivo según tejido vegetal

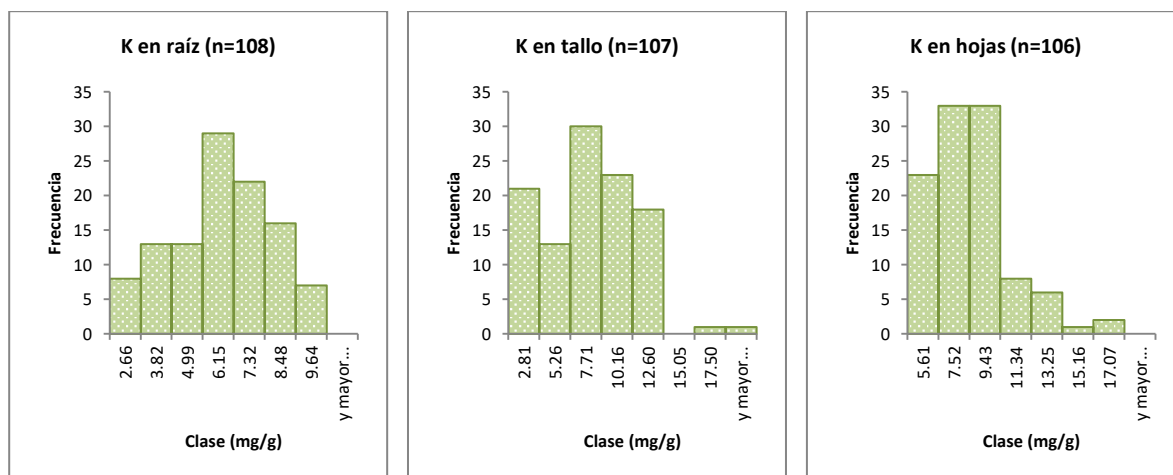


Figura 16. N° de muestras en función de la concentración de K en el colectivo según tejido vegetal

Se observa que N (Figura 14), tiene una buena representación de las muestras en todo el rango de concentración de los tres tejidos vegetales. Sin embargo, se observa claramente la diferencia de concentraciones en el rango de variabilidad composicional en correspondencia con la fracción de la planta. N en raíz y tallo muestra una distribución asimétrica a la derecha con rangos de concentración de 2.82-7.97 mg/g y 2.39-7.77 mg/g respectivamente; y N en hojas muestra una distribución normal simétrica con rango de concentración de 10.37-17.25 mg/g; por lo que se observa que existe una mayor concentración de N en hojas.

En el caso de P (Figura 15), se observa una distribución asimétrica a la derecha para P en raíz y tallo con buena representación de las muestras en todo el rango de concentración, sin embargo, una distribución asimétrica a la derecha en hojas pero con valores no representados en la porción superior de la distribución. P en raíz tiene un rango de concentración de 0.56-2.16 mg/g, en tallo de 0.43-1.19 mg/g, y en hojas de 0.62-4.91 mg/g; por lo que se observa que existe mayor concentración de P en hojas.

En el caso de K (Figura 16), se observa una distribución normal simétrica para K en raíz con buena representación de las muestras en todo el rango de concentración, pero una distribución asimétrica a la derecha de K en tallo y hojas con valores no representados en la porción superior de la distribución. K en raíz tiene un rango de concentración de 1.50-9.64 mg/g, en tallo de 0.36-17.50 mg/g, y en hojas de 3.70-17.07 mg/g; por lo que se observa que existe mayor concentración de K en tallo y hojas.

Los estadísticos de calibración para el colectivo según tejido vegetal fueron obtenidos al igual que el global con la aplicación de los 12 modelos matemáticos en el software. El modelo seleccionado que presenta mejor ajuste para este colectivo, coincide con el modelo global, el modelo M7 con corrección de scatter SNV and Detrend y 2°derivada espectral, elegido por diferencias no significativas y mínimas de décimas entre modelos (ver Anexo 1).

A continuación en la Tabla 7 se presentan los estadísticos de la calibración de rutina, según el modelo M7 seleccionado para el colectivo de calibración según tejido vegetal: raíz, tallo y hojas; y su comparación con los obtenidos en el modelo global.

Tabla 7. Estadísticos de calibración según tejidos vegetales

Colectivo de calibración	Modelo	N				P				K			
		F	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	SECV	R ² _{cv}	RPD
Global	M7	13	0.471	0.987	8.81	13	0.201	0.692	1.80	12	1.67	0.518	1.44
Raíz	M7	4	0.480	0.790	2.18	8	0.174	0.453	1.35	2	1.49	0.337	1.23
Tallo	M7	6	0.527	0.721	1.89	5	0.176	0.512	1.44	3	1.60	0.748	2.00
Hojas	M7	5	0.506	0.913	3.39	8	0.309	0.698	1.83	1	1.86	0.040	1.02

Se observa que los valores de R^2_{cv} y RPD en comparación con el colectivo global, sólo mejoran en el análisis de P en las hojas y en el análisis de K en tallos. Para el resto de tejidos la precisión del modelo global M7 empeora, y se puede deber a que en este colectivo se reduce el rango de variabilidad de las concentraciones respecto al colectivo global. Sin embargo se obtienen ecuaciones más robustas con un menor número de términos (F), pero aun así, el resto de estadísticos del modelo global son mejores, por lo que se recomienda el empleo del citado modelo global. Donde se obtiene peor resultado es en el K de hojas, que muestra un valor de R^2_{cv} de 0.040, un RPD de 1.02, y un número de términos (F) igual a 1, lo cual indica que el modelo NIRS para hojas no explica ninguna variación de la concentración de K en esta fracción. Esto parece un resultado relevante, e indicador de que el K en raíz, y sobre todo en tallos, al contar con modelos de predicción explicativos, está más ligado a compuestos orgánicos que en hojas, donde el potasio se encontraría en forma iónica no detectable por NIRS (Ciavarella et al.1998) (Van Maarschalkerweerd et al. 2015).

Al igual que en la calibración de rutina para el colectivo global, el software define muestras outliers o anómalas de cada elemento mineral según cada tejido vegetal, teniendo una descripción detallada de las mismas en el Anexo 3. Se observa que el 67% de las muestras pertenecen a hojas.

Posteriormente se elabora los gráficos con las rectas de regresión donde se representa la relación de los valores de referencia y los valores predichos obtenidos para los elementos minerales N, P y K, así como también el comportamiento de las muestras outliers para cada elemento. Estas muestras outliers no fueron tomadas en cuenta para la construcción de la recta de regresión en cada gráfico (ver Anexo 5). Comparando dichos gráficos con los obtenidos en el colectivo global, se observa que la recta de regresión sólo mejora en el análisis de P en las hojas y en el análisis de K en tallos, y de una manera mínima.

Al realizar una comparación con los resultados obtenidos por Gamarra (2017) que también realizó la separación por colectivo según tejido vegetal, obtiene que sus resultados obtenidos son mejores que los del colectivo global. Esto podría decir que en las especies de *Pinus* se predicen mejores ecuaciones cuando se separa por acículas, tallos y hojas, a diferencia que en la especie de *Quercus*, ya que en el presente estudio no se obtienen predicciones tan satisfactorias al realizar esta separación. Entonces se puede decir que no es muy recomendable hacer la calibración según tejidos vegetales, teniendo el modelo global con las tres fracciones (raíz, tallo y hojas) mejor capacidad predictiva.

5.3 Desarrollo de modelo de predicción según especie de *Quercus*

En el desarrollo de calibraciones según la especie de *Quercus*, en las figuras 17, 18 y 19 se muestran los histogramas para observar la distribución de las muestras en el rango de variación composicional.

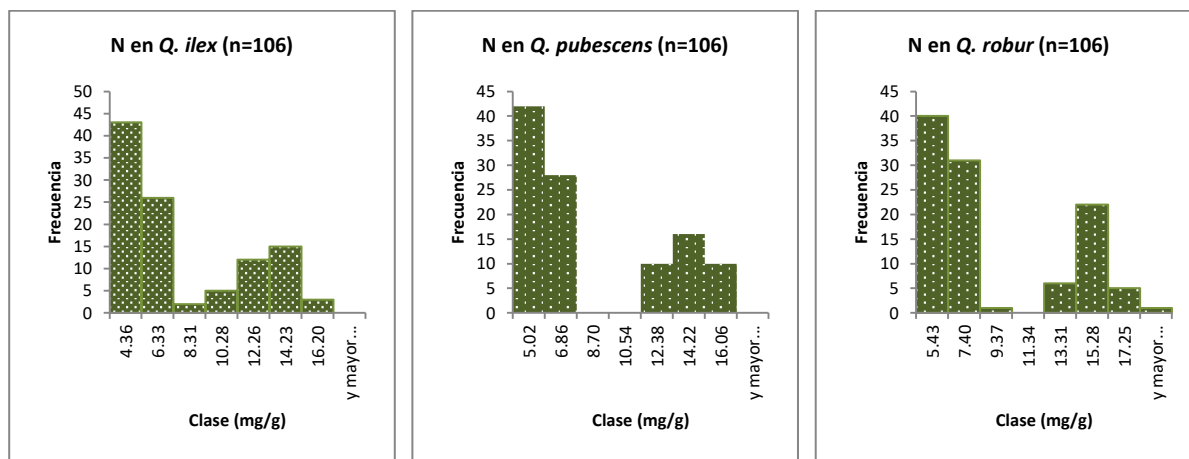


Figura 17. N° de muestras en función de la concentración de N en el colectivo según especie de *Quercus*

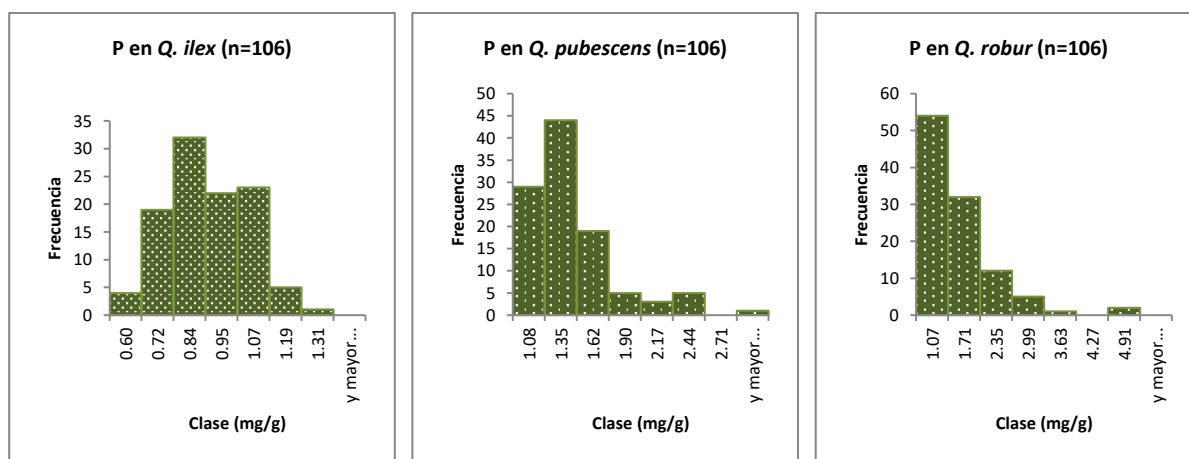


Figura 18. N° de muestras en función de la concentración de P en el colectivo según especie de *Quercus*

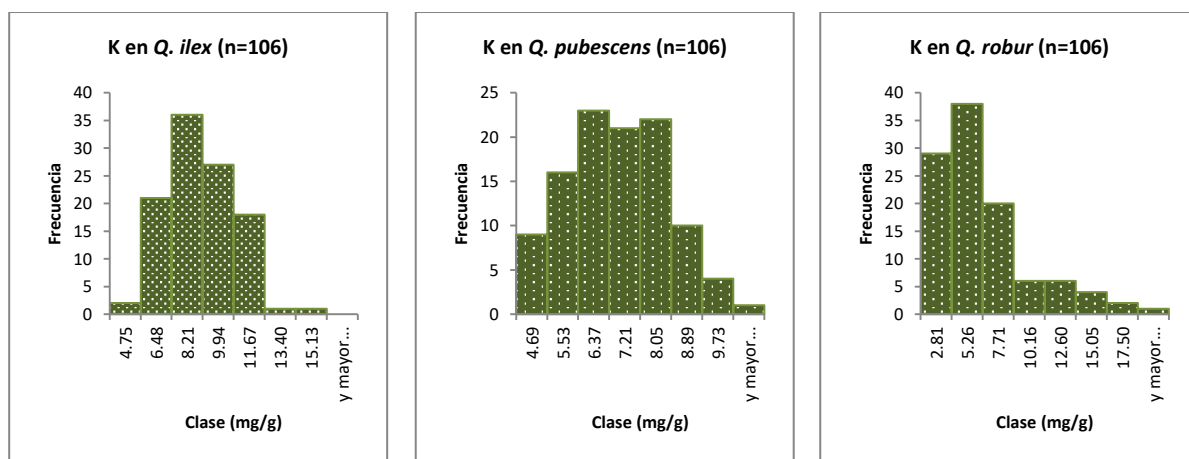


Figura 19. N° de muestras en función de la concentración de K en el colectivo según especie de *Quercus*

Se observa que N (Figura 17), tiene una distribución bimodal asimétrica en las tres especies de *Quercus*, teniendo claramente la separación por dos grupos de muestras en el rango de variabilidad composicional tal como ocurría en el colectivo global, un primer grupo formado en su gran mayoría por raíces y tallo; y un segundo grupo de muestras formado mayormente por hojas.

En el *Q. ilex* el 67% de muestras tiene concentración menor o igual a 8.31mg/g y el 33% tiene concentración mayor a 8.31mg/g; en el *Q. pubescens* el 66% concentración menor o igual a 6.86 mg/g y el 34% mayor a 6.86 mg/g; y en el *Q. robur* el 68% concentración menor o igual a 9.37 mg/g y el 32% mayor 9.37 mg/g. Por lo que se observa que el porcentaje de concentraciones va en correspondencia con la fracción de la planta.

En el caso de P (Figura 18), se observa una distribución normal simétrica para *Q. ilex* con una representación de muestras en todo el rango de concentración (0.49-1.31mg/g). En *Q. pubescens* y *Q. robur* el P presenta una distribución asimétrica a la derecha; con valores no representados en la porción superior de la distribución, y con rangos de concentración de 0.81-2.71 mg/g y 0.93-4.91 mg/g respectivamente; por lo que se observa que existe una mayor concentración de P en *Q. robur*.

En el caso de K (Figura 19), se observa una distribución normal simétrica para K en especies de *Q. ilex* y *Q. pubescens* con buena representación de las muestras en todo sus rangos de concentración (3.02-15.13 mg/g y 3.85-9.73 mg/g respectivamente). K en el *Q. robur* presenta una distribución asimétrica a la derecha; con un rango de concentración de 0.36-17.50mg/g; por lo que se observa que existe una mayor concentración de K en *Q. robur*.

Los estadísticos de calibración para el colectivo según especies de *Quercus* fueron obtenidos al igual que el global y que el de tejidos vegetales, con la aplicación de los 12 modelos matemáticos en el software. El modelo seleccionado que presenta mejor ajuste para este colectivo, coincide de igual manera con el modelo global, el modelo M7 con corrección de scatter SNV and Detrend y 2ºderivada espectral, elegido por diferencias no significativas y mínimas de décimas entre modelos (ver Anexo 1).

A continuación en la Tabla 8 se presentan los estadísticos de la calibración de rutina según el modelo M7 seleccionado, para el colectivo de calibración según las tres especies de *Quercus*; y su comparación con los obtenidos en el modelo global.

Tabla 8. Estadísticos de calibración según especies de *Quercus*

Colectivo de calibración	Modelo	N				P				K			
		F	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	SECV	R ² _{cv}	RPD
Global	M7	13	0.471	0.987	8.81	13	0.201	0.692	1.80	12	1.67	0.518	1.44
<i>Q. ilex</i>	M7	9	0.408	0.990	9.80	3	0.110	0.350	1.23	5	1.40	0.439	1.32
<i>Q. pubescens</i>	M7	9	0.396	0.991	10.54	6	0.243	0.384	1.27	1	1.25	0.113	1.07
<i>Q. robur</i>	M7	4	0.698	0.973	6.06	9	0.269	0.692	5.52	1	2.33	0.360	1.25

Se observa en la Tabla 8 que al separar las poblaciones de calibración según las especies de *Quercus*, la precisión del modelo seleccionado M7 mejora para el N en las especies de *Q. ilex* y *Q. pubescens*. Sólo en el caso del *Q. robur* no mejora, pero igualmente se obtienen excelentes valores de R^2_{cv} y RPD siendo ecuaciones más robustas con un menor número de términos (F) y valores de RPD > 6. Para el P, el RPD mejora mucho en el *Q. robur*. Para el K, empeora en todos los casos, y en *Q. pubescens* y *Q. robur*, que muestra valores de R^2_{cv} de 0.113 y 0.360 respectivamente, un RPD <1.25, y un número de términos (F) igual a 1, es decir que sólo tiene una ecuación, solo ha medido una longitud de onda, y eso no explica ninguna variación, por lo que no va a predecir de manera adecuada el K para estas dos especies.

Al igual que en la calibración de rutina para el colectivo global, el software define muestras outliers de cada elemento mineral según cada especie de *Quercus*, teniendo una descripción detallada de las mismas en el Anexo 4. Se observa que el 50% de las muestras pertenecen a hojas de *Q. robur*.

Posteriormente se elabora los gráficos con las rectas de regresión donde se representa la relación de los valores de referencia y los valores predichos obtenidos para los elementos minerales N, P y K, así como también el comportamiento de las muestras outliers para cada elemento, y se muestran en el Anexo 6.

Comparando dichos gráficos con los obtenidos en el colectivo global, se observa que la recta de regresión mejora en el análisis N en especies de *Q. ilex* y *Q. pubescens*, para P sólo mejora en *Q. robur*, y para K empeora en todas las especies. Estos resultados coinciden con lo expuesto anteriormente en las estadísticas de calibración obtenidas y comparadas con el modelo global. Entonces se puede decir que no es muy recomendable hacer la calibración según especies de *Quercus*, ya que se sigue obteniendo mejores resultados en general con las ecuaciones de calibración global.

Después de realizar todas las calibraciones, se observó que el modelo de calibración de N fue el mejor modelo predictivo obtenido en este estudio, con excelentes resultados en el modelo del colectivo global y moderadamente excelente en los demás colectivos, según categorizan algunos investigadores al obtener muy buenas ecuaciones para el nitrógeno (Galves et al. 2015), lo que afirma la buena predicción del N por medio del NIRS.

Sin embargo, al momento de separar el colectivo según tejidos vegetales o según especie de *Quercus*, se obtiene resultados interesantes que pueden dar motivo a futuras investigaciones en el campo del NIRS, con especial énfasis en el comportamiento de las hojas como tejido vegetal, y del *Quercus robur* como especie.

6 CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- La técnica de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) permitió elaborar un modelo de predicción del estado nutricional de los elementos minerales N, P, y K en tres especies del género *Quercus* (*Quercus ilex*, *Quercus pubescens* y *Quercus robur*) cultivadas en vivero.
- Las ecuaciones de predicción NIRS obtenidas con el colectivo global de muestras que incluye los tres diferentes tejidos vegetales y las tres especies del género *Quercus* tienen una excelente capacidad predictiva para N obteniendo un RPD de 8.81, y una aceptable capacidad predictiva para P y K obteniendo valores de RPD de 1.80 y 1.44.
- Las ecuaciones de predicción NIRS obtenidas separando el colectivo según tejido vegetal para los tres elementos minerales N, P y K mejora solamente para P en las hojas y el K en tallo. En el resto de los casos se recomienda utilizar el modelo global para la predicción.
- Las ecuaciones de predicción NIRS obtenidas separando el colectivo según especie de *Quercus* para los tres elementos minerales N, P y K; mejora la capacidad predictiva para N en las especies *Quercus ilex* y *Quercus pubescens*, y para P en la especie *Quercus robur*. En el resto de los casos se recomienda utilizar el modelo global para la predicción.

7 BIBLIOGRAFÍA

Alomar, D., Fuchslocher, R., Cuevas, J., Mardones, R., Cuevas, E. 2009. Prediction of the composition of fresh pastures by near infrared reflectance or interactance-reflectance spectroscopy. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69(2):198-206.

Ares, J.L., De Vera, E.M., Garrido, A., Serradilla, J. 2004. *La espectroscopía de infrarrojo cercano aplicada al análisis del contenido de proteína y caseína total de la leche de cabra*. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca, Córdoba, España.

Ben-Gera, I., Norris, K. H. 1968. Direct Spectrophotometric Determination of Fat and Moisture in Meat Products. *Food Science* 33(1):64-67.

Botero, J., Parra, L., Cabrera, K. 2009. Determinación del nivel de nutrición foliar en banano por espectroscopia de reflectancia. *Revista de la Facultad Nacional Agrónoma de Medellín* 62(2):5089-5098.

Bradshaw, A. 1997. What do we mean by restoration? En: Urbanska K.M., Webb N.R., Edwards P.J. (eds.), *Restoration Ecology and Sustainable Development*, pp. 8-16. Cambridge, UK.

Campo, L., Moreno-González, J. 2014. Ecuaciones NIRS desarrolladas para la estimación del contenido de proteína y almidón en grano de Maíz. En: *53ª Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (SEEP) Pastos y PAC 2014-2020*, Cantabria, España.

Casal, C. 2013. *Implantación de la tecnología NIRS en aplicaciones in-situ como herramienta de apoyo a las decisiones en el sector primario*. Trabajo de Fin de Máster, Universidad de Oviedo. España.

Chen, M., Glaz, B., Gilbert, R., Daroub, S., Barton, F., Wan, Y. 2002. Near Infrared Reflectance Spectroscopy Analysis of Phosphorus in Sugarcane Leaves. *Agronomy Journal* 94:1324-1331.

Ciavarella, S., Blakeney, A., Batten, G. 1998. Measuring potassium in plant tissues using near infrared spectroscopy. *Near Infrared Spectroscopy* 6:A63-A66.

Cozzolino, D. 1998. *Aplicación de la tecnología del NIRS para el análisis de calidad de los productos agrícolas*. INIA La Estanzuela, Montevideo, Uruguay.

Galvez-Sola, L., García-Sánchez, F., Pérez-Pérez, J.G., Gimeno, V., Navarro, J.M., Moral, R., Martínez-Nicolás, J., Nieves, M. 2015. Rapid estimation of nutritional elements on citrus leaves by near infrared reflectance spectroscopy. *Frontiers in Plant Science* 6(571):1-8.

Gamarra, L. 2017. *Modelo de predicción del estado nutricional de elementos minerales y de azúcares solubles totales en especies de pinos ibéricos por espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS)*. Trabajo de Fin de Máster, Universidad Politécnica de Madrid, España.

Gómez-Sánchez, I., García, J., García-Olmo, J., Lara-Buil, López-Luque, R., Prades, C. 2012. Aplicación de análisis de imagen y tecnología NIRS a la evaluación de la porosidad de planchas láminas y tapones de corcho y su relación con la calidad industrial. *Maderas. Ciencia y tecnología* 3(15):293-310.

Gorgas, J., Cardiel, N., Zamorano, J. 2009. *Estadística básica para estudiantes de ciencias*. Departamento de Astrofísica y Ciencias de la Atmósfera, Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Complutense de Madrid, España.

Guerrero, C., Zornoza, R., Pérez, A., Mataix, J. 2008. Uso de la espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIRS) para la estimación rápida del carbono orgánico y la respiración basal en suelos forestales. *Revista Ciencias Forestales* 25:209-214.

Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Skrumsager, I., White, P. 2012. Functions of Macronutrients. En: Hawkesford M., Horst W., T. Kichey, Marschner P. (eds.), *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plant*, pp. 135-189. Adelaide, Australia.

Howard, M. J., Workman, J. 1991. *Statistics in Spectroscopy*. Academic Press, San Diego, Estados Unidos.

Howeler, R. 1984. *Análisis del tejido vegetal en el diagnóstico de problemas nutricionales: algunos cultivos tropicales*. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia:

Huang, C., Han, L., Zengling, Y., Liu, X. 2009. Exploring the use of near infrared reflectance spectroscopy to predict minerals in straw. *Fuel* 88:163-168.

J. McKean, S. 1993. *Manual de análisis de suelos y tejido vegetal. Una guía teórica y práctica de metodologías*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

Landis, T. 1997. Monitoring seedling nutrition in bareroot and container nurseries. En: Haase, D. L.; Rose, R. (eds.) *Symposium Proceedings: Forest Seedling Nutrition from the Nursery to the Field*, pp. 69-83. Oregón, Estados Unidos.

Macias, M., Cueto, J., Munoz, J., Landeros, O. 2015. Predicción de propiedades del suelo de importancia agronómica por espectroscopia de reflectancia de infrarrojo cercano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 6(6):1317-1329.

Marañón, T., Padilla, C., Pérez, I. 2014. Tendencias en la investigación sobre ecología y gestión de las especies de *Quercus*. *Ecosistemas* 23(2):124-129.

Menesatti, P., Antonucci, F., Pallotino, F., Roccuzzo, G., Allegra, M., Stagno, F., Intrigliolo, F. 2010. Estimation of plant nutritional status by Vis-NIR spectrophotometric analysis on orange leaves. *Biosystems Engineering* 105(4):448-454.

Mills, R. 2017. *NIR for routine analysis of food and agricultural products*. FOSS, Hilleroed, Dinamarca. Disponible en: <https://www.fossanalytics.com/en/news-articles/technologies/nir>

Oliet, J.A. 2018. *Proyecto investigador en Área de conocimiento de Ingeniería agroforestal*. Universidad Politécnica de Madrid, España.

Oliet, J.A., Planelles, R., López, M., Artero, F. 1997. Efecto de la fertilización en vivero sobre la supervivencia en plantación de *Pinus halepensis*. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 4:69-79.

Oliet, J.A., Valdecantos, A., Puértolas, J., Trubat, R. 2006. Influencia del estado nutricional y el contenido en carbohidratos en el establecimiento de las plantaciones. En: Cortina, J. Peñuelas J.L.,

Puértolas J., Savé R., Vilagrosa A. (eds.), *Calidad de planta forestal para la restauración de ambientes mediterráneos. Estado actual de conocimientos*, pp. 89-117. Organismo Autónomo Parques Nacionales Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, España.

Oliet, J.A., Puértolas, J., Planelles, R., Jacobs, D.F. 2013. Nutrient loading of forest tree seedlings to promote stress resistance and field performance: a Mediterranean perspective. *New Forests* 44(5):649-669.

Pacho, L. 2016. *Modelo de predicción NIRS (Espectroscopia en infrarrojo cercano) para la caracterización del estado nutricional de la encina (Quercus ilex L.)*. Universidad Politécnica de Madrid, España.

Palacios, G., Navarro, R., Del Campo, A. 2001. *Desarrollo y evaluación de una ecuación NIRS para la determinación del contenido de almidón en raíces de plantas forestales*. Universidad de Córdoba, España.

Qi, H., Paz-Kagan, T., Karnieli, A., Jin, X., Li, S. 2018. Evaluating calibration methods for predicting soil available nutrients using hyperspectral VNIR data. *Soil & Tillage Research* 175:267–275.

Radojevik, M., N. Bashkin, V. 1999. *Practical Environmental Analysis*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, Estados Unidos.

Rey Benayas, J.M., Camacho-Cruz, A. 2004. Performance of *Quercus ilex* saplings planted in abandoned Mediterranean cropland after long-term interruption of their management. *Forest Ecology and Management* 194(1-3):223-233.

Shenk, J., Westerhaus, M. 1994. The Application of near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) to Forage Analysis. En: Fahey Jr., G.C., Mosser, L.E., Mertens, D.R., Collins, M. (eds.) *Forage quality, evaluation, and utilization*, pp. 406-449. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, Estados Unidos.

Soldado, A., Martínez, A., Pedrol, S., De la Roza, B. 2008. Aplicación de la tecnología NIR para la determinación de la composición botánica de praderas. En: *Pastos, clave en la gestión de los territorios: Integrando disciplinas*, pp. 113-119. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Asturias, España.

Van Maarschalkerweerd, M., Husted, S. 2015. Recent developments in fast spectroscopy for plant mineral analysis. *Frontiers in Plant Science* 6(169):1-14.

Villar, P. 2003. Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. En: Nicolau J., Benayas J., Espigares T., *Restauración de ecosistemas mediterráneos* pp. 65 – 86. Universidad de Alcalá, España.

Zhai, Y., Cui, L., Zhou, X., Gao, Y., Fei, T., Gao, W. 2013. Estimation of nitrogen, phosphorus, and potassium contents in the leaves of different plants using laboratory-based visible and near-infrared reflectance spectroscopy: comparison of partial least-square regression and support vector machine regression method. *International Journal of Remote Sensing* 34(7):2502–2518.

8 ANEXOS

Anexo 1. Estadísticos de calibración de rutina para cada colectivo de muestras

		Modelo	N					P					K							
			F	MEAN	SD	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	MEAN	SD	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	MEAN	SD	SECV	R ² _{cv}	RPD
Global		M1	14	7.60	4.15	0.471	0.987	8.82	14	1.07	0.361	0.212	0.655	1.70	11	6.41	2.40	1.70	0.497	1.41
		M2	14	7.57	4.13	0.467	0.987	8.84	15	1.07	0.361	0.207	0.669	1.74	12	6.41	2.40	1.69	0.506	1.42
		M3	12	7.63	4.18	0.504	0.985	8.29	13	1.07	0.363	0.204	0.685	1.78	10	6.43	2.41	1.70	0.502	1.42
		M4	11	7.62	4.18	0.517	0.985	8.08	13	1.07	0.363	0.203	0.687	1.79	10	6.43	2.41	1.69	0.503	1.42
		M5	13	7.54	4.13	0.469	0.987	8.81	11	1.07	0.370	0.221	0.641	1.67	10	6.41	2.39	1.69	0.501	1.42
		M6	13	7.54	4.13	0.466	0.987	8.86	11	1.07	0.370	0.221	0.642	1.67	10	6.41	2.39	1.69	0.496	1.41
		M7	13	7.57	4.15	0.471	0.987	8.81	13	1.07	0.363	0.201	0.692	1.80	12	6.41	2.40	1.67	0.518	1.44
		M8	13	7.57	4.15	0.472	0.987	8.79	13	1.07	0.363	0.202	0.691	1.80	11	6.42	2.41	1.66	0.522	1.45
		M9	13	7.61	4.17	0.488	0.986	8.54	11	1.07	0.360	0.225	0.611	1.60	10	6.40	2.38	1.72	0.480	1.39
		M10	14	7.59	4.17	0.489	0.986	8.53	11	1.07	0.360	0.224	0.612	1.60	11	6.40	2.38	1.70	0.489	1.40
		M11	11	7.63	4.18	0.513	0.985	8.16	13	1.07	0.363	0.204	0.684	1.78	10	6.43	2.40	1.70	0.503	1.42
		M12	11	7.62	4.18	0.518	0.985	8.06	13	1.07	0.363	0.203	0.686	1.79	10	6.43	2.41	1.69	0.504	1.42
Tejidos vegetales	Raíz	M1	8	4.76	1.06	0.489	0.785	2.16	6	1.06	0.236	0.169	0.487	1.39	2	5.66	1.83	1.48	0.348	1.24
		M2	8	4.76	1.06	0.489	0.785	2.16	6	1.06	0.236	0.170	0.486	1.39	2	5.66	1.83	1.48	0.347	1.24
		M3	7	4.75	1.05	0.504	0.769	2.08	4	1.06	0.235	0.185	0.383	1.27	2	5.66	1.83	1.48	0.349	1.24
		M4	5	4.76	1.05	0.553	0.720	1.89	4	1.06	0.235	0.185	0.384	1.27	2	5.66	1.83	1.47	0.355	1.25
		M5	3	4.74	1.05	0.520	0.754	2.02	8	1.05	0.232	0.185	0.368	1.26	1	5.64	1.82	1.50	0.137	1.21
		M6	3	4.74	1.05	0.518	0.756	2.03	5	1.04	0.224	0.183	0.336	1.22	1	5.66	1.83	1.54	0.297	1.19
		M7	4	4.77	1.05	0.480	0.790	2.18	8	1.06	0.235	0.174	0.453	1.35	2	5.66	1.83	1.49	0.337	1.23
		M8	4	4.78	1.07	0.499	0.783	2.15	8	1.06	0.235	0.172	0.464	1.37	2	5.66	1.83	1.49	0.342	1.23
		M9	5	4.76	1.04	0.550	0.719	1.89	6	1.06	0.235	0.174	0.452	1.35	8	5.72	1.86	1.55	0.309	1.20
		M10	7	4.76	1.06	0.502	0.775	2.11	6	1.06	0.235	0.174	0.452	1.35	3	5.66	1.83	1.50	0.334	1.23
		M11	7	4.75	1.05	0.503	0.769	2.09	4	1.06	0.235	0.185	0.383	1.27	2	5.66	1.83	1.48	0.349	1.24
		M12	5	4.76	1.05	0.551	0.722	1.90	4	1.06	0.235	0.185	0.384	1.27	2	5.66	1.83	1.47	0.355	1.25
	Tallo	M1	6	4.85	1.00	0.624	0.617	1.61	7	0.92	0.245	0.161	0.567	1.53	4	6.63	3.17	1.63	0.735	1.95
		M2	4	4.85	1.00	0.628	0.612	1.60	6	0.93	0.253	0.169	0.548	1.49	4	6.63	3.17	1.63	0.734	1.94
		M3	8	4.88	1.00	0.537	0.717	1.87	4	0.92	0.245	0.172	0.500	1.42	3	6.63	3.17	1.65	0.729	1.92
		M4	9	4.89	1.00	0.491	0.760	2.04	4	0.92	0.245	0.172	0.503	1.42	3	6.63	3.17	1.65	0.729	1.93
		M5	7	4.88	1.00	0.545	0.701	1.83	5	0.93	0.253	0.169	0.552	1.50	3	6.62	3.18	1.62	0.740	1.97
		M6	9	4.88	1.00	0.530	0.718	1.88	5	0.93	0.253	0.169	0.548	1.49	3	6.62	3.18	1.62	0.740	1.96
		M7	6	4.88	1.00	0.527	0.721	1.89	5	0.93	0.254	0.176	0.512	1.44	3	6.62	3.18	1.60	0.748	2.00
		M8	6	4.88	1.00	0.526	0.722	1.89	5	0.93	0.254	0.176	0.514	1.44	3	6.62	3.18	1.59	0.748	2.00
		M9	7	4.88	1.00	0.547	0.700	1.82	6	0.93	0.255	0.173	0.538	1.48	4	6.63	3.17	1.66	0.725	1.91
		M10	8	4.85	1.00	0.594	0.653	1.69	6	0.93	0.255	0.173	0.535	1.47	4	6.63	3.17	1.86	0.725	1.70
		M11	8	4.88	1.00	0.537	0.716	1.87	4	0.92	0.245	0.173	0.500	1.42	3	6.63	3.17	1.65	0.728	1.92
		M12	9	4.89	1.00	0.491	0.760	2.04	4	0.92	0.245	0.172	0.503	1.42	3	6.63	3.17	1.65	0.729	1.92
	Hojas	M1	6	13.25	1.70	0.575	0.886	2.96	5	1.33	0.570	0.346	0.627	1.65	1	7.22	1.97	1.96	0.006	1.01
		M2	6	13.25	1.70	0.576	0.886	2.96	5	1.33	0.570	0.346	0.627	1.65	1	7.22	1.97	1.96	0.006	1.01
		M3	5	13.21	1.70	0.495	0.916	3.43	6	1.31	0.550	0.312	0.675	1.76	1	7.22	1.97	1.95	0.016	1.01
		M4	5	13.21	1.70	0.497	0.915	3.42	7	1.31	0.550	0.305	0.690	1.80	1	7.22	1.97	1.95	0.016	1.01

		Modelo	N						P						K					
			F	MEAN	SD	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	MEAN	SD	SECV	R ² _{cv}	RPD	F	MEAN	SD	SECV	R ² _{cv}	RPD
Especies de Quercus		M5	7	13.21	1.69	0.502	0.911	3.36	8	1.32	0.566	0.325	0.668	1.74	1	7.11	1.84	1.80	0.043	1.02
		M6	7	13.18	1.67	0.476	0.919	3.52	8	1.33	0.570	0.334	0.654	1.71	1	7.11	1.84	1.80	0.042	1.02
		M7	5	13.24	1.72	0.506	0.913	3.39	8	1.32	0.566	0.309	0.698	1.83	1	7.16	1.90	1.86	0.040	1.02
		M8	5	13.24	1.72	0.506	0.913	3.39	8	1.32	0.566	0.311	0.695	1.82	1	7.16	1.90	1.86	0.040	1.02
		M9	6	13.25	1.70	0.569	0.888	2.99	6	1.33	0.570	0.346	0.627	1.65	1	7.22	1.97	1.96	0.005	1.00
		M10	6	13.25	1.70	0.571	0.887	2.98	6	1.33	0.570	0.347	0.626	1.64	1	7.22	1.97	1.96	0.005	1.00
		M11	5	13.21	1.70	0.495	0.915	3.43	6	1.31	0.550	0.312	0.675	1.76	1	7.22	1.97	1.95	0.016	1.01
		M12	5	13.21	1.70	0.498	0.914	3.41	6	1.31	0.550	0.313	0.674	1.76	1	7.22	1.97	1.95	0.016	1.01
	Q. ilex	M1	9	6.60	3.75	0.499	0.982	7.51	3	0.846	0.136	0.109	0.361	1.24	6	8.02	1.84	1.44	0.405	1.28
		M2	9	6.60	3.75	0.503	0.982	7.46	3	0.846	0.136	0.109	0.361	1.24	6	8.02	1.84	1.44	0.405	1.28
		M3	9	6.88	4.00	0.472	0.986	8.48	3	0.846	0.136	0.109	0.367	1.25	6	8.02	1.84	1.39	0.442	1.32
		M4	9	6.88	4.00	0.474	0.986	8.45	3	0.846	0.136	0.109	0.367	1.25	6	8.02	1.84	1.39	0.439	1.32
		M5	9	6.84	3.98	0.466	0.986	8.54	3	0.846	0.136	0.111	0.335	1.22	6	8.04	1.84	1.34	0.479	1.37
		M6	9	6.81	3.97	0.483	0.985	8.23	3	0.846	0.136	0.111	0.335	1.22	6	8.04	1.84	1.35	0.476	1.36
		M7	9	6.83	4.00	0.408	0.990	9.80	3	0.846	0.136	0.110	0.350	1.23	5	8.02	1.84	1.40	0.439	1.32
		M8	9	6.83	4.00	0.411	0.989	9.72	3	0.846	0.136	0.110	0.348	1.23	5	8.02	1.85	1.39	0.441	1.33
		M9	9	6.76	3.89	0.524	0.982	7.44	3	0.846	0.136	0.108	0.371	1.25	7	8.04	1.84	1.30	0.516	1.42
		M10	9	6.76	3.89	0.526	0.982	7.41	3	0.846	0.136	0.108	0.372	1.25	7	8.04	1.84	1.31	0.508	1.41
		M11	9	6.88	4.00	0.473	0.986	8.47	3	0.846	0.136	0.109	0.368	1.25	6	8.04	1.84	1.38	0.450	1.33
		M12	9	6.88	4.00	0.475	0.986	8.44	3	0.846	0.136	0.109	0.367	1.25	6	8.02	1.84	1.39	0.440	1.32
	Q. pubescens	M1	8	7.88	4.15	0.480	0.987	8.65	7	1.24	0.294	0.222	0.428	1.33	2	6.59	1.35	1.26	0.120	1.07
		M2	8	7.88	4.15	0.480	0.987	8.65	7	1.24	0.288	0.215	0.439	1.34	2	6.59	1.35	1.26	0.118	1.07
		M3	9	7.88	4.15	0.431	0.989	9.64	3	1.23	0.279	0.232	0.307	1.20	1	6.61	1.33	1.25	0.107	1.06
		M4	9	7.88	4.15	0.432	0.989	9.62	3	1.23	0.279	0.231	0.312	1.21	1	6.61	1.33	1.25	0.108	1.06
		M5	9	7.88	4.15	0.454	0.988	9.15	6	1.24	0.295	0.232	0.380	1.27	2	6.59	1.35	1.26	0.126	1.07
		M6	9	7.88	4.15	0.455	0.988	9.13	6	1.24	0.295	0.232	0.380	1.27	4	6.54	1.31	1.16	0.214	1.13
		M7	9	7.94	4.17	0.396	0.991	10.54	6	1.25	0.310	0.243	0.384	1.27	1	6.61	1.33	1.25	0.113	1.07
		M8	9	7.92	4.16	0.415	0.990	10.01	6	1.25	0.310	0.242	0.388	1.28	1	6.61	1.33	1.25	0.114	1.07
		M9	9	7.88	4.15	0.444	0.989	9.35	6	1.25	0.310	0.244	0.382	1.27	4	6.57	1.34	1.19	0.212	1.13
		M10	9	7.88	4.15	0.444	0.989	9.35	7	1.25	0.310	0.238	0.408	1.30	4	6.57	1.34	1.18	0.214	1.13
		M11	9	7.88	4.15	0.431	0.989	9.64	3	1.23	0.279	0.232	0.307	1.20	1	6.61	1.33	1.25	0.107	1.06
		M12	9	7.88	4.15	0.431	0.989	9.63	3	1.23	0.279	0.231	0.312	1.21	1	6.61	1.33	1.25	0.108	1.06
	Q. robur	M1	9	8.10	4.30	0.669	0.976	6.44	1	1.14	0.463	0.295	0.593	1.57	6	4.84	2.97	2.25	0.427	1.32
		M2	9	8.10	4.30	0.665	0.976	6.48	1	1.14	0.463	0.295	0.593	1.57	6	4.92	3.06	2.34	0.416	1.31
		M3	4	7.97	4.23	0.924	0.971	4.58	1	1.14	0.463	0.296	0.591	1.57	2	4.82	2.91	2.33	0.357	1.25
		M4	4	7.97	4.23	0.720	0.971	5.88	1	1.14	0.463	0.296	0.590	1.57	2	4.82	2.91	2.33	0.357	1.25
		M5	9	8.10	4.30	0.654	0.977	6.59	6	1.16	0.496	0.300	0.633	1.65	2	4.82	2.91	2.33	0.357	1.25
		M6	9	8.10	4.30	0.655	0.977	6.58	6	1.16	0.496	0.300	0.632	1.65	2	4.82	2.91	2.33	0.356	1.24
		M7	4	7.97	4.23	0.698	0.973	6.06	9	1.15	1.486	0.269	0.692	5.52	1	4.82	2.91	2.33	0.360	1.25
		M8	4	7.97	4.23	0.697	0.973	6.07	9	1.15	0.486	0.270	0.690	1.80	1	4.82	2.91	2.33	0.359	1.25
		M9	8	7.90	4.19	0.688	0.973	6.10	1	1.14	0.463	0.295	0.594	1.57	4	4.92	3.06	2.37	0.403	1.29
		M10	5	7.97	4.23	0.735	0.970	5.76	1	1.14	0.463	0.295	0.594	1.57	5	4.92	3.06	2.32	0.429	1.32
		M11	4	7.97	4.23	0.723	0.971	5.85	1	1.14	0.463	0.296	0.591	1.57	2	4.82	2.91	2.33	0.357	1.25
		M12	4	7.97	4.23	0.720	0.971	5.88	1	1.14	0.463	0.296	0.590	1.57	2	4.82	2.91	2.33	0.357	1.25

Anexo 2. Descripción de muestras outliers generadas en calibración según colectivo global

Elemento mineral	Código NIR	Tejido vegetal	Especie	Descripción	Sustrato	Fertilización	Valores de referencia	Valores predichos
N	R92	Raíz	<i>Quercus robur</i>	PeK B2 SA2	Turba rubia	Más potasio	3.92	5.39
	S54	Tallo	<i>Quercus pubescens</i>	CoK B2 SA2	Fibra de coco	Más potasio	3.37	5.24
	S56	Tallo	<i>Quercus pubescens</i>	PeK B2 SA2	Turba rubia	Más potasio	3.96	5.49
	L87	Hojas	<i>Quercus robur</i>	CoST B2 SA1	Fibra de coco	Estándar	16.75	14.66
	L92	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeK B2 SA2	Turba rubia	Más potasio	14.07	16.16
P	R67	Raíz	<i>Quercus pubescens</i>	PeK B3 SA1	Turba rubia	Más potasio	2.19	1.45
	L49	Hojas	<i>Quercus pubescens</i>	CoP B2 SA1	Fibra de coco	Más fósforo	2.20	1.14
	L67	Hojas	<i>Quercus pubescens</i>	PeK B3 SA1	Turba rubia	Más potasio	2.71	1.92
	L80	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeK B1 SA2	Turba rubia	Más potasio	4.91	2.04
	L81	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeST B1 SA1	Turba rubia	Estándar	2.50	1.68
	L83	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeP B1 SA1	Turba rubia	Más fósforo	4.61	1.83
	L84	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeP B1 SA2	Turba rubia	Más fósforo	2.44	1.35
	L89	Hojas	<i>Quercus robur</i>	CoK B2 SA1	Fibra de coco	Más potasio	2.24	1.63
	L94	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeST B2 SA2	Turba rubia	Estándar	2.11	1.40
	L95	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeP B2 SA1	Turba rubia	Más fósforo	3.43	1.73
	L96	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeP B2 SA2	Turba rubia	Más fósforo	2.69	1.64
K	S88	Tallo	<i>Quercus robur</i>	CoST B2 SA2	Fibra de coco	Estándar	17.50	3.07
	S104	Tallo	<i>Quercus robur</i>	PeK B3 SA2	Turba rubia	Más potasio	12.06	3.96
	L83	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeP B1 SA1	Turba rubia	Más fósforo	12.02	5.64
	L86	Hojas	<i>Quercus robur</i>	CoP B2 SA2	Fibra de coco	Más fósforo	12.95	6.85
	L87	Hojas	<i>Quercus robur</i>	CoST B2 SA1	Fibra de coco	Estándar	15.58	5.85
	L88	Hojas	<i>Quercus robur</i>	CoST B2 SA2	Fibra de coco	Estándar	14.96	7.04
	L92	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeK B2 SA2	Turba rubia	Más potasio	10.54	3.77
	L101	Hojas	<i>Quercus robur</i>	CoK B3 SA1	Fibra de coco	Más potasio	12.34	6.39
	L104	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeK B3 SA2	Turba rubia	Más potasio	17.07	5.11
	L106	Hojas	<i>Quercus robur</i>	PeST B3 SA2	Turba rubia	Estándar	12.89	4.83

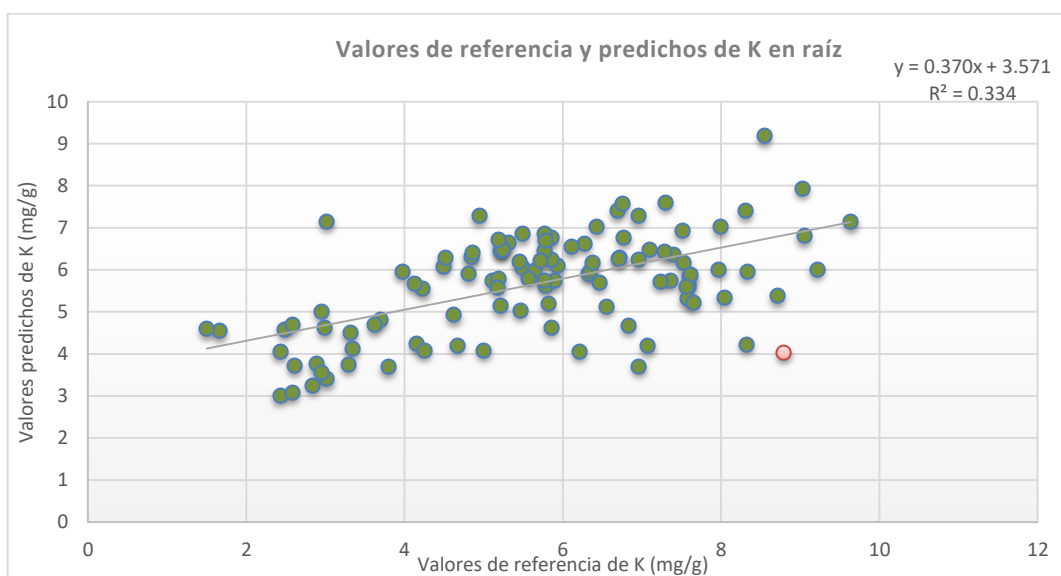
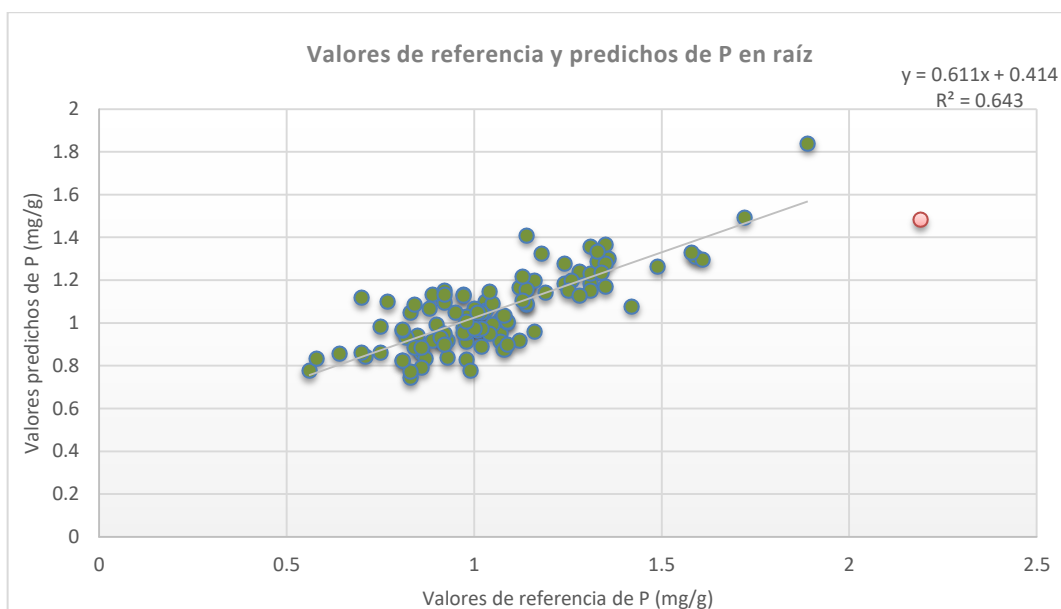
Anexo 3. Descripción de muestras outliers generadas en calibración según tejido vegetal

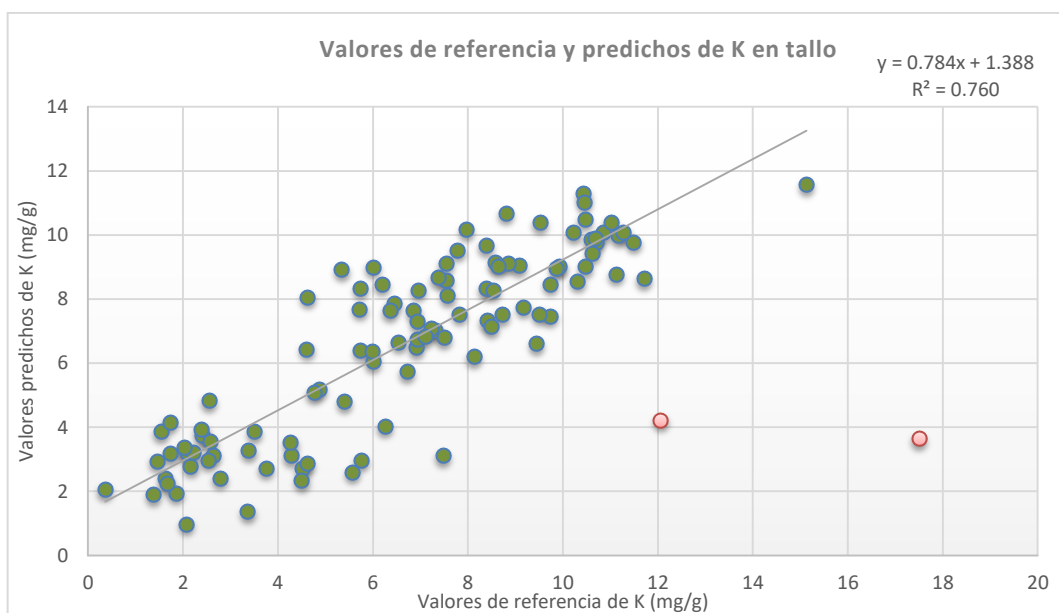
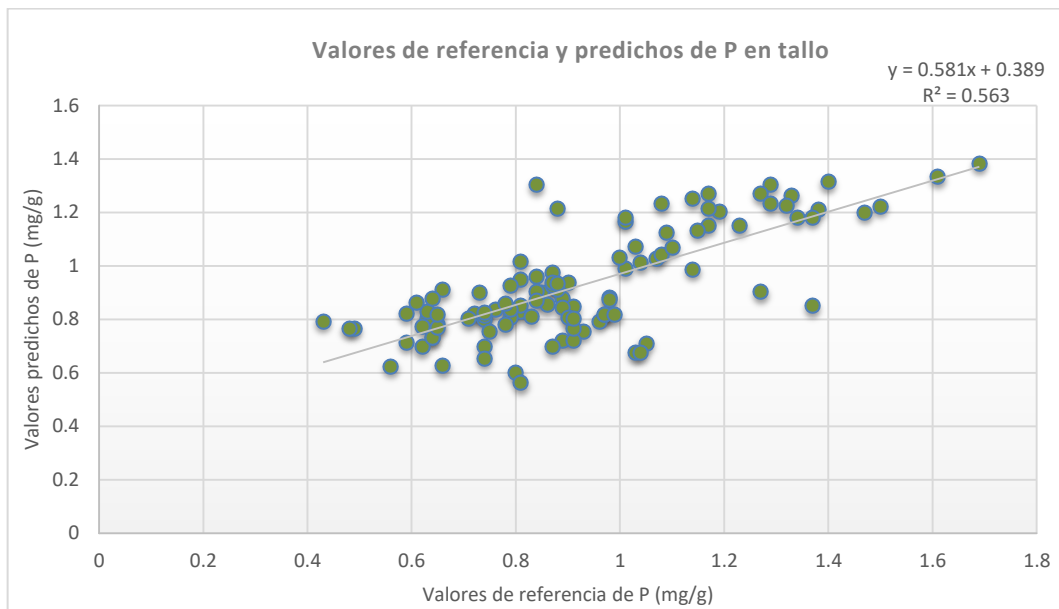
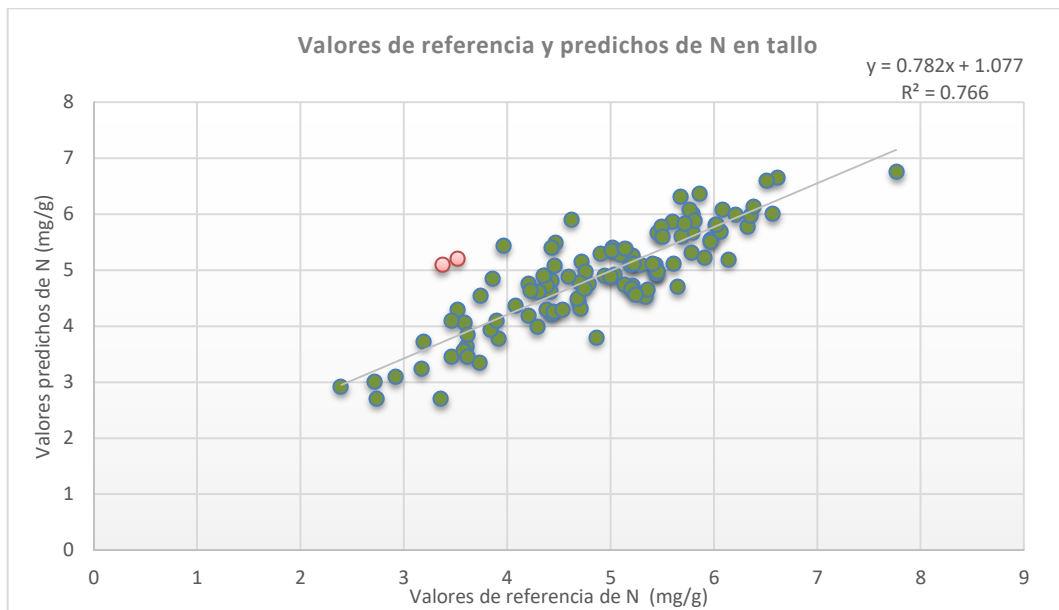
Colectivo de calibración	Elemento mineral	Código NIRS	Descripción	Sustrato	Fertilización	Valores referencia	Valores predichos
Raíz	N	R3	CoST B1 SA1	Fibra de coco	Estándar	7.45	6.00
		R92	PeK B2 SA2	Turba rubia	Más potasio	3.92	5.93
	P	R67	PeK B3 SA1	Turba rubia	Más potasio	2.19	1.48
	K	R106	PeST B3 SA2	Turba rubia	Estándar	8.79	4.04
Tallo	N	S54	CoK B2 SA2	Fibra de coco	Más potasio	3.37	5.10
		S73	CoP B1 SA1	Fibra de coco	Más fósforo	3.52	5.21
	K	S88	CoST B2 SA2	Fibra de coco	Estándar	17.50	3.64
		S104	PeK B3 SA2	Turba rubia	Más potasio	12.06	4.21
Hojas	N	L22	PeST B2 SA2	Turba rubia	Estándar	11.72	9.96
		L87	CoST B2 SA1	Fibra de coco	Estándar	16.75	14.60
		L91	PeK B2 SA1	Turba rubia	Más potasio	13.69	15.54
		L92	PeK B2 SA2	Turba rubia	Más potasio	14.07	15.88
	P	L49	CoP B2 SA1	Fibra de coco	Más fósforo	2.20	1.02
		L80	PeK B1 SA2	Turba rubia	Más potasio	4.91	2.25
		L83	PeP B1 SA1	Turba rubia	Más fósforo	4.61	2.27
		L84	PeP B1 SA2	Turba rubia	Más fósforo	2.44	1.39
		L95	PeP B2 SA1	Turba rubia	Más fósforo	3.43	2.18
	K	L86	CoP B2 SA2	Fibra de coco	Más fósforo	12.95	6.09
		L87	CoST B2 SA1	Fibra de coco	Estándar	15.58	6.30
		L88	CoST B2 SA2	Fibra de coco	Estándar	14.96	6.39
		L98	CoP B3 SA2	Fibra de coco	Más fósforo	12.74	6.62
		L101	CoK B3 SA1	Fibra de coco	Más potasio	12.34	6.74
		L104	PeK B3 SA2	Turba rubia	Más potasio	17.07	6.28
		L106	PeST B3 SA2	Turba rubia	Estándar	12.89	6.09

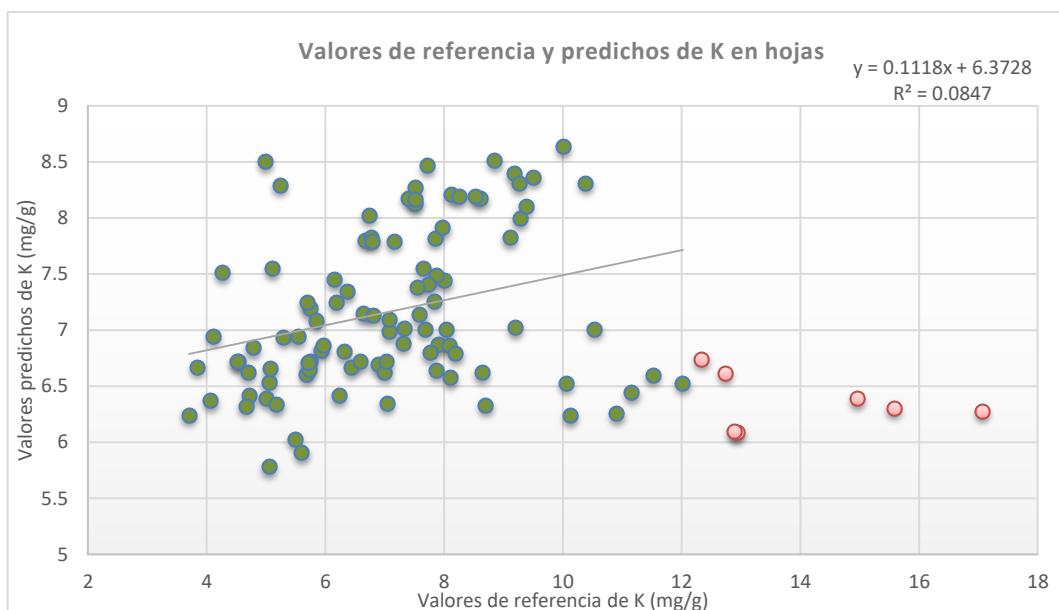
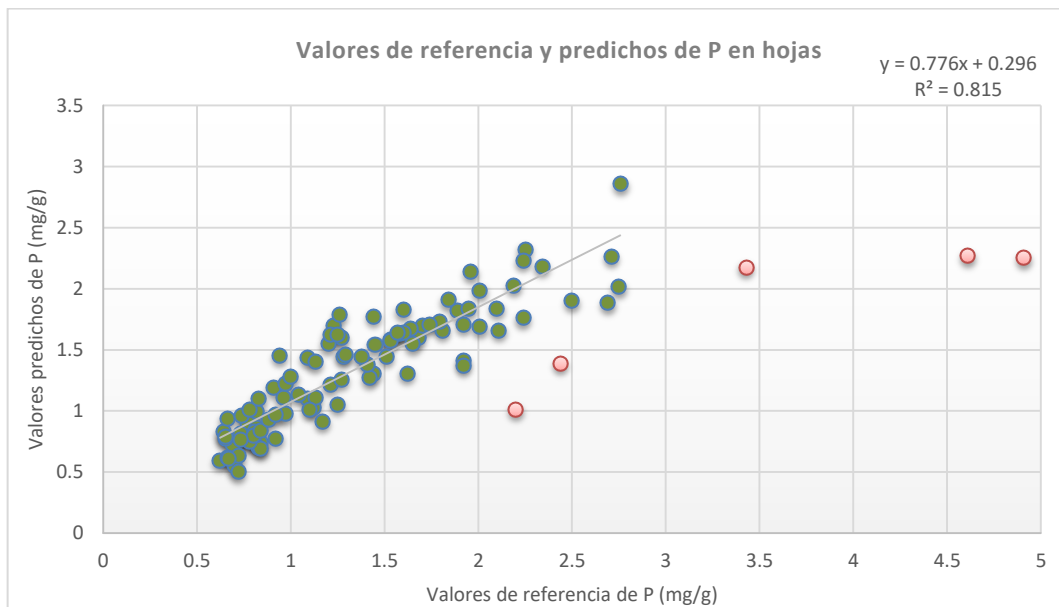
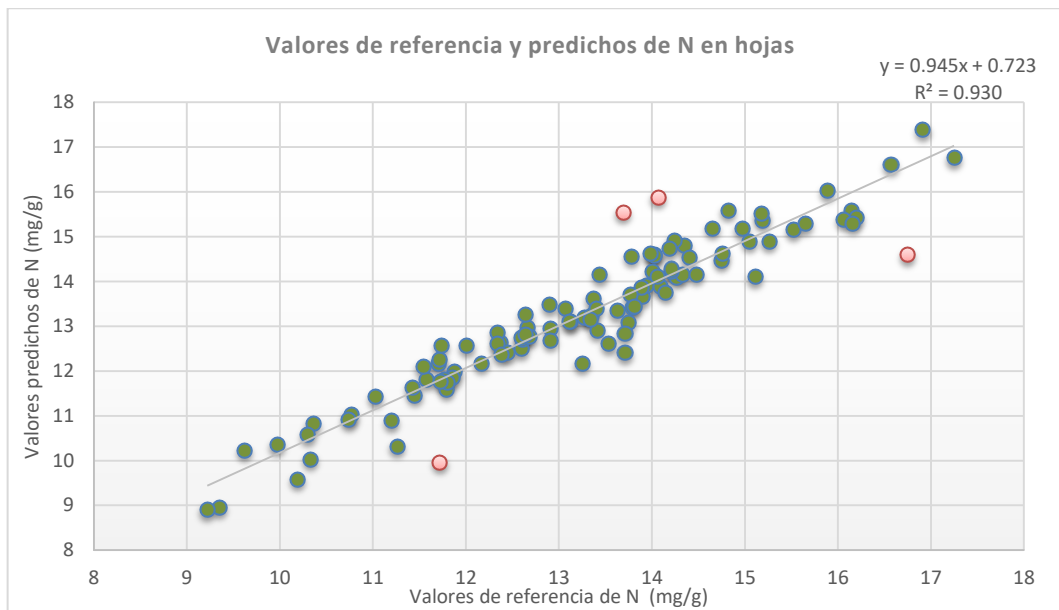
Anexo 4. Descripción de muestras outliers generadas en calibración según especie de *Quercus*

Colectivo de calibración	Elemento mineral	Código NIRS	Descripción	Sustrato	Fertilización	Valores referencia	Valores predichos
<i>Q. ilex</i>	N	R3	CoST B1 SA1	Fibra de coco	Estándar	7.45	6.08
	P	R4	CoST B1 SA2	Fibra de coco	Estándar	0.56	1.08
		R28	CoST B3 SA2	Fibra de coco	Estándar	0.64	0.98
		R35	PeP B3 SA1	Turba rubia	Más fósforo	1.31	0.91
		S4	CoST B1 SA2	Fibra de coco	Estándar	0.49	1.00
	K	S12	PeP B1 SA2	Turba rubia	Más fósforo	15.13	10.10
<i>Q. pubescens</i>	N	S54	CoK B2 SA2	Fibra de coco	Más potasio	3.37	5.34
		S56	PeK B2 SA2	Turba rubia	Más potasio	3.96	5.55
	P	R67	PeK B3 SA1	Turba rubia	Más potasio	2.19	1.33
		L48	PeP B1 SA2	Turba rubia	Más fósforo	2.10	1.30
		L49	CoP B2 SA1	Fibra de coco	Más fósforo	2.20	1.17
		L67	PeK B3 SA1	Turba rubia	Más potasio	2.71	1.75
<i>Q. robur</i>	N	L87	CoST B2 SA1	Fibra de coco	Estándar	16.75	14.20
		L95	PeP B2 SA1	Turba rubia	Más fósforo	17.25	15.00
	P	L80	PeK B1 SA2	Turba rubia	Más potasio	4.91	2.24
		L83	PeP B1 SA1	Turba rubia	Más fósforo	4.61	2.08
		L84	PeP B1 SA2	Turba rubia	Más fósforo	2.44	1.42
		L89	CoK B2 SA1	Fibra de coco	Más potasio	2.24	1.32
		L103	PeK B3 SA1	Turba rubia	Más potasio	2.75	1.81
	K	S88	CoST B2 SA2	Fibra de coco	Estándar	17.50	3.74
		S104	PeK B3 SA2	Turba rubia	Más potasio	12.06	3.49
		L87	CoST B2 SA1	Fibra de coco	Estándar	15.58	7.34
		L88	CoST B2 SA2	Fibra de coco	Estándar	14.96	7.42
		L104	PeK B3 SA2	Turba rubia	Más potasio	17.07	7.42

Anexo 5. Calibración de rutina para N, P y K según tejidos vegetales







Anexo 6. Calibración de rutina para N, P y K según especie de *Quercus*

